

ADRIANA SERENIKI

**EFEITO DOS ANTIINFLAMATÓRIOS EM MODELOS ANIMAIS
DE PARKINSONISMO**

Dissertação apresentada como requisito
parcial para a obtenção do título de Mestre em
Farmacologia, Curso de Pós-Graduação em
Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas,
Universidade Federal do Paraná

Orientadora Prof^a Dr^a Maria Aparecida
B F Vital

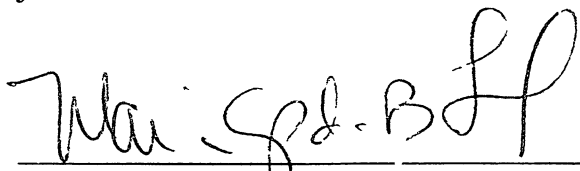
CURITIBA

2006




PARECER

A Comissão Examinadora de Dissertação de Mestrado “EFEITOS DOS ANTIINFLAMATÓRIOS EM MODELOS ANIMAIS DE PARKINSONISMO”, de autoria da Pós-Graduanda **ADRIANA SERENIKI**, e composta pelos Professores Dr^a Maria Aparecida Barbato Frazão Vital, Dr^a. Gisele Richter Minhoto (PUC-PR), Dr Roberto Andreatini (UFPR). De acordo com o Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, a Pós-Graduanda foi APROVADA. Para a devida publicação o trabalho deve sofrer as modificações sugeridas, que serão conferidas pela orientadora. Em Curitiba, 30 de janeiro de 2006


Dr^a Maria Aparecida Barbato Frazão Vital


Dr^a Gisele Richter Minhoto



Dr Roberto Andreatini



ATA DO JULGAMENTO DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

1 Ao trigésimo dia do mês de janeiro do ano de dois mil e seis, às 09 horas, no anfiteatro
2 10 (dez) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, reuniu-se
3 a Comissão Examinadora de Dissertação de Mestrado de autoria da Pós-Graduanda em
4 Farmacologia, **ADRIANA SERENIKI**, intitulada: "Efeitos dos Antunflamatórios em
5 Modelos Animais de Parkinsonismo", sob orientação da Profª Drª. Maria Aparecida
6 Barbato Frazão Vital, e composta pelos professores. Dr Roberto Andreatini (UFPR), e
7 Drª Gisele Richter Minhoto (PUC-PR). A Banca Examinadora iniciou os trabalhos. A
8 candidata teve quarenta e cinco minutos para expor oralmente seu trabalho, sendo em
9 seguida argüida durante quinze minutos por cada um dos membros da Banca, e tendo
10 trinta minutos para responder a cada uma das arguições. No final a Comissão
11 Examinadora emitiu o seguinte parecer APROVADA. De acordo com o
12 Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, a Pós-Graduanda
13 foi APROVADA. Para a publicação o trabalho deverá sofrer as
14 modificações sugeridas, que serão conferidas por sua orientadora. Nada mais havendo a
15 tratar, a Presidente deu por encerrada a sessão, da qual foi lavrada a presente ata, que
16 será assinada pela Presidente e pelos demais Membros da Banca Examinadora, em
17 Curitiba, 30 de janeiro de 2006.
18


Drª. Maria Aparecida Barbato Frazão Vital (Orientadora)


Dr Roberto Andreatini


Drª. Gisele Richter Minhoto (PUC-PR)

“Eu sempre faço o que não consigo, para aprender como se faz.”

Pablo Picasso

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, pela presença, força e esperança nos momentos de desânimo e desespero.

A meus pais, pelo amor e apoio incondicionais, em todos os momentos.

Ao meu noivo, Juliano, pela paciência, amor, confiança e orgulho pelo meu trabalho.

A minha orientadora e grande amiga, profa. Dra. Maria Aparecida Vital, pela atenção, carinho, paciência, experiência de vida e ensino do amor pela pesquisa.

À CAPES, por possibilitar que eu pudesse me dedicar exclusivamente ao meu crescimento profissional.

As minhas amigas Caroline, Inara, Evellyn, Priscilla, Mariana e Lucélia, por todos os momentos que passamos juntas.

Aos professores Dra. Roseli, Dr. Roberto e Dr. Paulo, pelos conselhos, parceria, amizade e auxílio em meus experimentos.

Aos demais professores do Departamento de Farmacologia, por proporcionar experiências muito importantes para minha vida profissional.

À amiga e farmacêutica do Departamento de Farmacologia, Silvia Gennari, pela amizade sempre presente e auxílio em todas minhas dúvidas.

À Marisa, Nair, Lindacir e Tiago, pelo cuidado e respeito pelo meu trabalho e meus animais.

Ao Cândido e ao Luiz, funcionários do Biotério Central da UFPR, pela atenção e rapidez na entrega dos animais para meus experimentos.

Às secretárias do Departamento de Farmacologia, Cristina e Alessandra, pelo auxílio em todas solicitações.

Aos demais colegas do Departamento de Farmacologia, pelo companheirismo e amizade compartilhados.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	26
2.1 OBJETIVO GERAL.....	26
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
3.1 ANIMAIS.....	27
3.2 DROGAS.....	27
3.3 O MODELO ANIMAL DA RESERPINA.....	28
3.4 O MODELO ANIMAL DO MPTP.....	28
3.5 A CIRURGIA ESTEREOTÁXICA.....	29
3.6 AVALIAÇÃO MOTORA E COMPORTAMENTAL.....	31
3.6.1 Avaliação Motora no Campo Aberto.....	31
3.6.2 Natação Forçada Versão Modificada.....	33
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
4. RESULTADOS.....	35
4.1 EFEITO DA NIMESULIDA (3mg/Kg) NA ATIVIDADE GERAL DE RATOS APÓS ADMINISTRAÇÃO DE RESERPINA.....	35
4.2 EFEITO DA NIMESULIDA (10mg/Kg) NA ATIVIDADE GERAL DE RATOS APÓS ADMINISTRAÇÃO DE RESERPINA.....	38
4.3 EFEITOS DOS ANTIINFLAMATÓRIOS EM UM MODELO ANIMAL DE PARKINSONISMO INDUZIDO POR RESERPINA EM RATOS.....	42
4.4 EFEITOS DOS ANTIINFLAMATÓRIOS NA NATAÇÃO FORÇADA VERSÃO MODIFICADA EM UM MODELO DE PARKINSONISMO INDUZIDO POR RESERPINA EM RATOS.....	48
4.5 EFEITO DA NIMESULIDA (10 E 3mg/Kg) NA ATIVIDADE GERAL DE RATOS APÓS INFUSÃO BILATERAL DE MPTP.....	53
4.5.1 Resultados 24 horas.....	53
4.5.2 Resultados 7 dias.....	57
4.5.3 Resultados 14 dias.....	60
4.5.4 Resultados 21 dias.....	63
4.5.5 Resultados 28 dias.....	66
4.6 EFEITOS DA NIMESULIDA (25 E 10mg/Kg) NA ATIVIDADE GERAL DE RATOS APÓS INFUSÃO BILATERAL DE MPTP.....	68
4.6.1 Resultados 24 horas.....	69

4.6.2 Resultados 7 dias.....	72
4.6.3 Resultados 14 dias.....	75
4.7 EFEITO DA NIMESULIDA (25mg/Kg) NA NATAÇÃO FORÇADA VERSÃO MODIFICADA APÓS INFUSÃO BILATERAL DE MPTP.....	77
5. DISCUSSÃO.....	82
6. CONCLUSÃO.....	96
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97

LISTA DE ABREVIATURAS

6-OHDA – 6-hidroxidopamina
AINES – Antiinflamatórios não esteroidais
AP-1 – Proteína ativadora-1
AS – Salicilato sódico
COMT – Catecol-O-metil-transferase
COX – Ciclooxygenase
DAT – Transportador de dopamina
DEXA – Dexametasona
DOPAC – Ácido dihidroxifenilacético
GSH – Glutathione reduzida
GSSG – Glutathione oxidada
H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio
HNE – 4-hidroxi-2,3-nonenal
HVA – Ácido homovanílico
IL-β – Interleucina-β
INDO – Indometacina
i.p. - Intraperitonal
KCN – Cianeto de potássio
LPS – Lipopolissacarídeo
MAO – Monoamino oxidase
MHC – Moléculas de histocompatibilidade
MPP⁺ - 1-metil-4-fenilpiridínio
MPTP – 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina
NIM – Nimesulida
NMDA – N-metil-D-aspartato
NO – Óxido nítrico
NOS – Óxido nítrico sintase
ONOO⁻ - Peroxinitrito
PARE – Parecoxib

PGE₂ – Prostaglandina E₂

RES – Reserpina

RNS – Espécies reativas de nitrogênio

ROS – Espécies reativas de oxigênio

SAL - Salina

SNc – Substância Negra parte compacta

TGF-β – Fator de crescimento tumoral-β

TH – Tirosina hidroxilase

TNF-α – Fator de necrose tumoral-α

UCH-L1 – Ubiquitina carboxil-terminal hidroxilase L1

VEI – Veículo

VMAT – Transportadores vesiculares de monoaminas

RESUMO

A doença de Parkinson é uma patologia neurodegenerativa, cujos sintomas incluem bradicinesia, tremor em repouso, instabilidade postural e associados à depressão, que afeta aproximadamente 40% dos pacientes. A etiologia da doença de Parkinson não está completamente elucidada, entretanto, dentre os vários fatores relacionados à neurodegeneração, a neuroinflamação exerce papel relevante como fator de risco de desenvolvimento da patologia. Neste sentido, avaliamos o efeito de antiinflamatórios em modelos animais de parkinsonismo induzidos pela reserpina e pelo MPTP.

Verificamos que a administração da reserpina (1mg/Kg) provocou redução da atividade geral dos ratos no teste do campo aberto e redução do tempo de natação e aumento do tempo de imobilidade no teste da natação forçada versão modificada. Observamos também que a administração da dexametasona (2mg/Kg), da indometacina (10mg/Kg), da nimesulida (10mg/Kg) e do parecoxib (5mg/Kg) reverteu a hipoatividade dos animais avaliados no teste do campo aberto. No entanto, no teste da natação forçada, apenas a nimesulida (10mg/Kg) e o parecoxib (5mg/Kg) aumentaram o tempo de natação e reduziram o tempo de imobilidade dos ratos avaliados.

A infusão intranigral bilateral de MPTP foi capaz de reduzir a atividade geral dos animais avaliados no teste do campo aberto. Mais ainda, no teste da natação forçada, a infusão desta neurotoxina provocou a redução dos tempos de escalada e natação e aumento do tempo de imobilidade. Entretanto, a nimesulida administrada previamente (10 e 25mg/Kg) à cirurgia e prolongadamente (3 e 10mg/Kg) durante 28 dias não reverteu a hipoatividade induzida pelo MPTP, bem como não aumentou o tempo de escalada e natação e reduziu o tempo de imobilidade.

Deste modo, verificamos que os efeitos dos antiinflamatórios em modelos animais da doença de Parkinson precisam ser melhor investigados.

ABSTRACT

Parkinson's disease is a neurodegenerative pathology, which symptoms include bradikinesia, tremor at rest, postural instability and are associated to depression, which affects 40% of the patients. The etiology of Parkinson's disease is still unknown, but among all risk factors, the neuroinflammation exerts an important role in neurodegeneration. Thus, we evaluated the effects of anti-inflammatory drugs in animal models of reserpine and MPTP-induced Parkinsonism.

We verified that reserpine administration (1mg/Kg) reduced the general activity of rats in the open field test. This drug also produced a reduction in the swimming time and an increase in the immobility time in the forced swim test. We observed that the administration of dexamethasone (2mg/Kg), indomethacin (10mg/Kg), nimesulide (10mg/Kg) and parecoxib (5mg/Kg) reversed the animal's hypoactivity in the open field test, but only nimesulide and parecoxib were capable to reduce the immobility time in the forced swim test.

The MPTP intranigral infusion provoked a reduction in general activity of rats evaluated in the open field test. In the forced swim test, this neurotoxin also produced an increase in the immobility time associated to a reduction in the climbing and swimming time. However, prior (10 and 25mg/Kg) and prolonged (3 and 10mg/Kg) administration of nimesulide during 28 days was not able to reverse MPTP induced-hypoactivity, as well as, did not reduce the immobility time and increase climbing and swimming times.

Thus, we verified that the effects of anti-inflammatory drugs in animal models of Parkinsonism must be better investigated.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos Gerais da Doença

As doenças neurodegenerativas progressivas afetam uma grande proporção da população mundial, sendo que a doença de Parkinson é bastante freqüente atingindo aproximadamente 1% das pessoas com idade superior aos 55 anos (EMBORG, 2004). Existe um aumento de cinco vezes do risco de desenvolvimento da patologia após os 70 anos (HALD & LOTHARIUS, 2005). As manifestações clínicas da doença de Parkinson incluem o tremor em repouso, a bradicinesia, a hipocinesia e as anormalidades posturais (EMBORG, 2004). O tremor característico da doença de Parkinson é um tremor distal de repouso de 3 a 6 Hz. Tipicamente, o tremor nas mãos toma a forma de um movimento conhecido como o de “enrolar cigarro”, entre o polegar e o indicador. Este movimento torna-se mais evidente quando a mão está em repouso durante situações de estresse (RIEDER *et al.*, 2004). Outros sinais como micrografia, redução da mímica facial, marcha arrastada com passos curtos, distúrbios do sono, deficiências da fala, dificuldades de mastigação e deglutição também estão presentes (RIEDER *et al.*, 2004).

A depressão é o distúrbio neuropsiquiátrico mais comum na doença de Parkinson; tem sido demonstrado ser mais comum nesta patologia do que em outras doenças crônicas (ROJO *et al.*, 2003) e ocorre aproximadamente em 40% dos pacientes (BARBOSA *et al.*, 1997). Embora tenha sido proposto que os sintomas depressivos possam ser uma reação psicológica às limitações impostas pelo prejuízo motor (STARKSTEIN *et al.*, 1990), muitos estudos têm sugerido que os sintomas depressivos derivam das alterações na neurotransmissão noradrenérgica (CHAN-PALAY & ASAN, 1989), dopaminérgica (CANTELLO *et al.*, 1989) e serotoninérgica (MAYEUX *et al.*, 1984).

A principal dificuldade para um diagnóstico preciso da doença de Parkinson deve-se à freqüência com que os sintomas da doença de Parkinson ocorrem em outras patologias. Tais sinais são denominados de “parkinsonismo”. A doença de Parkinson é a forma mais comum de parkinsonismo, nome dado às alterações

clínicas semelhantes. A doença de Parkinson também é denominada de parkinsonismo primário ou doença de Parkinson idiopática (RIEDER *et al.*, 2004).

A doença de Parkinson deve ser diferenciada do parkinsonismo secundário devido ao fato que qualquer processo que danifique as estruturas dos gânglios da base e suas conexões ou, prejudique suas funções, é capaz de induzir ao parkinsonismo (AHLSKOG, 2001). Assim, o parkinsonismo secundário pode ser provocado por drogas neurolépticas e antieméticas (AHLSKOG, 2001), pela cinarizina e flunarizina (DANIEL & MAURO, 1995; MICHELI *et al.*, 1987); após traumatismos (demência pugilística) (LEES, 1997; MENDEZ, 1995), após infecções virais (AIDS), por doenças imunes, doenças vasculares, hidrocefalia e através de toxinas como o 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP), o manganês, e o cianeto (AHLSKOG, 2001).

Embora a história da terapia da doença de Parkinson envolva a descoberta da levodopa e seus efeitos sobre os sintomas desta doença, a moderna era do desenvolvimento farmacológico e da terapêutica experimental está focada em como desacelerar ou reverter a evolução desta patologia (STERN, 2001). A reposição da dopamina estriatal a partir do precursor da própria dopamina, a L-dopa, é o tratamento farmacológico mais efetivo para a doença de Parkinson. No entanto, o tratamento crônico com a levodopa desenvolve, na maioria dos pacientes portadores da doença de Parkinson, problemas como flutuações motoras e discinesias (JANKOVIC, 1993; FAHN, 1992). Mais ainda, o uso da levodopa na doença de Parkinson seria, supostamente, neurotóxica (SIMUNI & STERN, 1999), sendo que os níveis de glutathione peroxidase se apresentaram reduzidos na substância negra em pacientes parkinsonianos (SIAN *et al.*, 1994; SOFIC *et al.*, 1992; PERRY *et al.*, 1982). Outras estratégias farmacológicas incluem os agonistas dopaminérgicos, os quais atuam diretamente sobre os receptores dopaminérgicos; ainda, os inibidores da enzima monoamino oxidase (MAO) ou os inibidores da catecol-o-metiltransferase (COMT), os quais reduzem a *turnover* da dopamina (LANG & LOZANO, 1998). A eficácia destas drogas é menor quando comparada a levodopa, porém o seu uso inicial ou em associação a levodopa poderia reduzir, ou até mesmo, evitar a ocorrência de discinesias ou

de efeitos adversos neuropsiquiátricos, reações que freqüentemente comprometem o tratamento farmacológico da doença de Parkinson (LANG & LOZANO, 1998).

1.2. Fisiopatologia da Doença de Parkinson

A neuropatologia da doença de Parkinson caracteriza-se pela perda progressiva dos neurônios pigmentados da substância negra parte compacta (SNc), evidenciada macroscopicamente por uma despigmentação da porção ventrolateral desta estrutura (Figura 1 e 2), em associação à vasta ocorrência de lesões eosinofílicas conhecidas como corpúsculos de Lewy no interior do Sistema Nervoso Central e Sistema Nervoso Autônomo (GELB *et al.*, 1999).

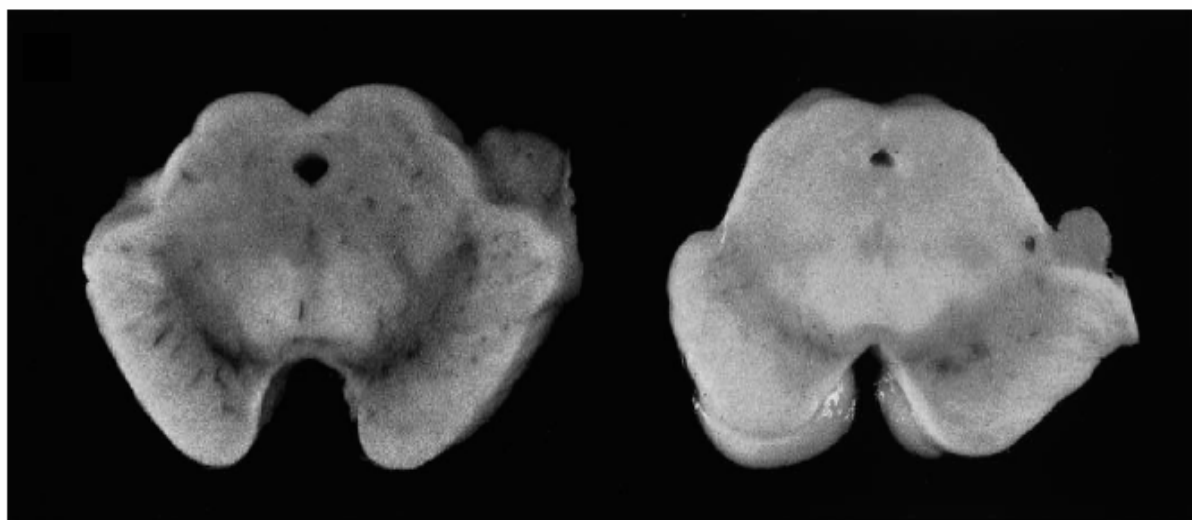


Figura 1. Secções transversais de mesencéfalos de indivíduos controle (à esquerda) e de um paciente portador da doença de Parkinson (à direita). A região pigmentada da substância negra parte compacta pode ser claramente vista no mesencéfalo ventral controle, contrastando com a significativa despigmentação presente na doença de Parkinson. Retirado de: ORR *et al.* (2002).

No interior do cérebro existem três grupos de neurônios dopaminérgicos : o grupo A8, presente na formação reticular lateral; o grupo A9, presente na substância negra parte compacta e o grupo A10, presente no tegmento médio e dorsal (DAHLSTRÖM & FUXE, 1964). Os neurônios do grupo A9 enviam projeções para o putamen e o núcleo caudado a fim de influenciar na via dos gânglios basais (POLLACK, 2001). A primeira perda de células dopaminérgicas ocorre seletivamente no interior da região A9, devastando a substância negra parte compacta e afetando também as regiões circunvizinhas como a parte reticulada e as células dos grupos A8 e A10 (McRITCHIE *et al.*, 1997; HALLIDAY *et al.*, 1996). No interior da substância negra parte compacta, a perda de células segue um padrão específico, afetando as células ventrais em preferência às células dorsais (DAMIER *et al.*, 1999; HALLIDAY *et al.*, 1996; FEARNLEY & LEES, 1991). A perda dos neurônios dopaminérgicos da substância negra parte compacta reduz as concentrações de dopamina estriatal em um padrão regional – ocorre grande perda no putamen, uma perda intermediária no caudado e finalmente o estriado ventral é afetado (HORSTINK & MORRISH, 1999; HIRSCH *et al.*, 1998).

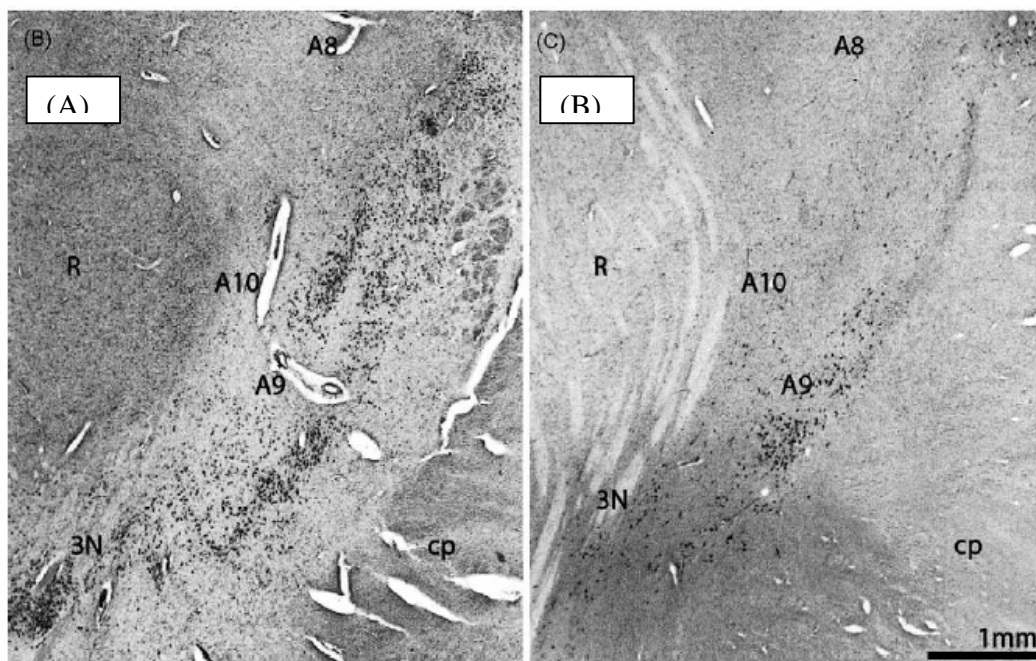


Figura 2. Despigmentação da porção ventrolateral da substância negra parte compacta. A) Em indivíduos controle há uma alta densidade de neurônios pigmentados na secção transversal do mesencéfalo ventral. O grupo de células A9 é encontrado na substância negra parte compacta e contém duas camadas de neurônios pigmentados. Entre a área A9 e o núcleo rubro (R) encontra-se o grupo menos pigmentado da área A10, enquanto a área A8 localiza-se dorsal e lateralmente ao núcleo rubro (R) e a substância negra parte compacta. B) Na doença de Parkinson, há uma significativa perda dos neurônios da área A9 e particularmente sua camada ventral. Retirado de ORR *et al.* (2002).

Há um declínio gradual dos neurônios dopaminérgicos na substância negra parte compacta com o avanço da idade, associado a uma redução dos níveis de dopamina estriatal. Na doença de Parkinson idiopática, entretanto, os sintomas tornam-se aparentes quando cerca de 80% dos níveis dopaminérgicos estriatais e aproximadamente 50% dos neurônios dopaminérgicos nigrais são perdidos (DEUMENS *et al.*, 2002). Além da redução dos níveis dopaminérgicos, esta perda neuronal gera uma cascata de alterações funcionais as quais afetam o processamento de informações nos gânglios da base (BLANDINI *et al.*, 2000). Nos

pacientes parkinsonianos ainda pode ocorrer a degeneração dos neurônios dopaminérgicos na via tegmental ventral (AGID *et al.*, 1990), a redução dos níveis de noradrenalina nos neurônios do *locus coeruleus* (STOOF *et al.*, 1999), redução de serotonina no núcleo da Rafe e redução de acetilcolina no núcleo basal de Meynert (CANDY *et al.*, 1983).

A outra característica histopatológica da doença de Parkinson, os corpúsculos de Lewy, são formados por uma forma agregada anormal de proteína α -sinucleína (BRAAK *et al.*, 2003). Ainda não está elucidado porque esta proteína hidrofílica deixa seu sítio de ligação no interior dos botões sinápticos e, associada a outros componentes como neurofilamentos fosforilados e ubiquitina, transforma-se gradualmente em corpúsculos de Lewy insolúveis (BRAAK *et al.*, 2000). O aparecimento dos corpúsculos de Lewy na doença de Parkinson, bem como em outras doenças neurodegenerativas, parece ocorrer anteriormente ao desenvolvimento dos sintomas motores (BRAAK *et al.*, 2003). Além das estruturas olfatórias, as primeiras alterações patológicas aparecem no núcleo olfatório anterior e no bulbo olfatório. Subseqüentemente, os corpúsculos de Lewy também são vistos em áreas correlatas próximas, como o tubérculo olfatório, o córtex piriforme, o córtex periamigdalóide e o córtex entorrinal (PRICE, 1990). De acordo com alguns estudos clínicos, pacientes portadores da doença de Parkinson freqüentemente são acometidos por um prejuízo olfatório anos antes do desenvolvimento das alterações motoras (HAWKES *et al.*, 1999; HAWKES *et al.*, 1997). Além disso, é importante destacar que a substância negra parte compacta não é a primeira estrutura cerebral a desenvolver os corpúsculos de Lewy presentes na doença de Parkinson (BRAAK *et al.*, 2003).

O prejuízo imposto a importantes estruturas límbicas (amígdala, hipocampo, mesocórtex anteromedial temporal) está relacionado ao declínio intelectual (BRAAK *et al.*, 2000), enquanto o comprometimento cognitivo está associado ao estágio final da doença de Parkinson (DUBOIS & PILLON, 1997).

1.3. Etiologia da Doença de Parkinson

Embora a doença de Parkinson tenha sido descrita pela primeira vez por James Parkinson em 1817, a sua etiologia ainda permanece desconhecida. Vários fatores têm sido propostos para o desenvolvimento da doença de Parkinson, incluindo as alterações genéticas, a exposição ambiental, o estresse oxidativo e a excitotoxicidade.

1.3.1 Alterações genéticas

Embora a doença de Parkinson possa, em alguns casos, ocorrer devido à mutações puramente genéticas, esta forma de patologia ainda é muito rara. Atualmente acredita-se que a doença de Parkinson seja decorrente de uma combinação da susceptibilidade genética associada a uma exposição ambiental (RIEDER *et al.*, 2004). Estima-se que aproximadamente 90% dos casos da doença de Parkinson sejam idiopáticos, enquanto os outros 10% dos casos seriam familiares, sendo que, alguns estudos sugeriram que indivíduos parkinsonianos com idade inferior a 50 anos (TANNER *et al.*, 1999) são mais suscetíveis a manifestar alterações genéticas.

Evidências do envolvimento da proteína α -sinucleína no desenvolvimento da doença de Parkinson têm sido corroboradas através de estudos genéticos com pacientes portadores da forma familiar da patologia, as quais incluem mutações em genes como G209A em famílias gregas (POLYMEROPOULOS *et al.*, 1997), no gene G88C em famílias germânicas (KRUGER *et al.*, 1998) e no gene E46K em famílias espanholas (ZARRANZ *et al.*, 2004). Entretanto, o mecanismo molecular pelo qual oligômeros anormais da proteína α -sinucleína provocam disfunção e morte dos neurônios dopaminérgicos na substância negra parte compacta permanece não elucidado (von BOHLEN und HALBACH *et al.*, 2004). A super-expressão da proteína α -sinucleína no sistema nigroestriatal de ratos induziu atrofia celular e axonal, incluindo inclusões citoplasmáticas de α -sinucleína positivas, as quais foram acompanhadas por uma perda de 30-80% de neurônios dopaminérgicos nigrais e uma redução de 40-50% dos níveis de dopamina estriatais (KIRIK *et al.*, 2002). Estes resultados indicaram que os neurônios

dopaminérgicos nigrais são vulneráveis à altos níveis de α -sinucleína, evidenciando o papel desta proteína na patogênese da doença de Parkinson (von BOHLEN und HALBACH *et al.*, 2004). No entanto, estes experimentos não permitiram concluir se os altos níveis de α -sinucleína provocaram a morte neuronal na substância negra (von BOHLEN und HALBACH *et al.*, 2004). Além da proteína α -sinucleína, alterações em outras proteínas também estariam envolvidas no desenvolvimento da doença de Parkinson, incluindo a sinfilina-1 (ENGELENDER *et al.*, 1999), a parkina (GIASSON & LEE, 2001) e a ubiquitina carboxil-terminal hidroxilase L1 - UCH-L1 – (CHUNG *et al.*, 2001). Em adição, a concentração do alelo 122 do gene interferon- γ encontrou-se mais baixa em pacientes portadores da doença de Parkinson da forma familiar em comparação ao pacientes parkinsonianos da forma idiopática (MIZUTA *et al.*, 2001).

Outro fator relacionado às alterações genéticas é o estresse proteolítico, o qual associa a perda dos neurônios dopaminérgicos na doença de Parkinson ao acúmulo tóxico de proteínas agregadas (HALD & LOTHARIUS, 2005). Esta teoria é evidenciada por estudos demonstrando que o estresse oxidativo severo impediu a degradação das proteínas não ubiquitinizadas pela via do proteossoma 20S, aumentando assim a agregação de proteínas tóxicas em amostras *post-mortem* de pacientes portadores da doença de Parkinson da forma familiar (McNAUGHT & OLANOW, 2003).

1.3.2 *Exposição Ambiental*

Evidências a favor do fator ambiental no desenvolvimento da doença de Parkinson, a qual inclui a habilidade das substâncias neurotóxicas em atuar diretamente no sistema nigroestriatal, têm sido alvo de estudos para agentes específicos relacionados à patologia (DI MONTE *et al.*, 2002). Estudos epidemiológicos associaram o desenvolvimento da doença de Parkinson à fatores de risco ambientais tais como residência rural, agricultura e exposição à pesticidas (DI MONTE *et al.*, 2002). As classes de pesticidas potencialmente associadas à degeneração nigroestriatal não foram determinadas na maioria dos estudos

epidemiológicos, entretanto LIOU *et al.* (1997) identificaram o bupiridil (paraquat), os compostos organoclorados, os organofosforados, os rotenóides e os derivados dos carbamatos como agentes potencialmente tóxicos. FLEMING *et al.* (1994) foram os primeiros a reportar os níveis de pesticidas em cérebros humanos, observando que níveis de compostos organoclorados (dieldrin) estavam presentes no cérebro de pacientes portadores da doença de Parkinson, enquanto CORRIGAN *et al.* (1998) também encontraram concentrações significativamente mais altas de dieldrin no núcleo caudado *post-mortem* de pacientes parkinsonianos.

Estudos têm demonstrado que a exposição ocupacional a alguns metais como o cobre e o manganês, bem como uma exposição associada entre chumbo, cobre e ferro (GORELL *et al.*, 1999; GORELL *et al.*, 1997), também oferecem risco de desenvolvimento da doença de Parkinson. Embora alguns sintomas parkinsonianos possam estar associados à exposição ao manganês, a fisiopatologia desta síndrome induzida por metais difere significativamente da doença de Parkinson idiopática, principalmente porque os sintomas relacionados à exposição ao manganês não respondem ao tratamento com L-dopa, além do alvo de toxicidade ser primeiramente o globo pálido preferencialmente ao sistema nigroestriatal (PAL *et al.*, 1999). Mais ainda, na doença de Parkinson idiopática, estudos experimentais têm focado o papel do ferro na neurodegeneração nigroestriatal. Níveis elevados de ferro em cérebros parkinsonianos foram primeiramente descritos por EARLE (1968) e estudos subseqüentes confirmaram este acúmulo na substância negra parte compacta (DEXTER *et al.*, 1989). DEXTER *et al.* (1990) também demonstraram uma redução nos níveis de ferritina nos tecidos nigrais de pacientes portadores da doença de Parkinson. A ferritina é a proteína capaz de manter o ferro em um estado não reativo. Assim, o acúmulo do ferro associado à redução da ferritina podem mediar processos tóxicos na doença de Parkinson. Particularmente, a reação de Fenton poderia produzir radicais hidroxilas altamente tóxicos na presença de ferro e do peróxido de hidrogênio, levando ao estresse oxidativo e conseqüente morte neuronal (DI MONTE *et al.*, 2002).

1.3.3 Estresse Oxidativo

Intracelularmente, a dopamina é degradada tanto pela enzima monoamino oxidase A (MAO-A) (GOTZ *et al.*, 1994) quanto por auto-oxidação. O metabolismo da dopamina pela MAO-A leva à formação do ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) sob consumo de O_2 e H_2O (GESI *et al.*, 2001). A auto-oxidação intracelular da dopamina produz H_2O_2 e dopamina-quinona (SULZER & ZECCA, 2000), a qual participa de reações nucleofílicas associadas à grupos sulfidríla (STOKES *et al.*, 1999), levando à redução dos níveis de glutathione peroxidase (GSH), a principal enzima utilizada para contrabalançar o estresse oxidativo. Assim, a dopamina-quinona tem inibido a função do transportador de dopamina nos sinaptossomas (BERMAN & HASTINGS, 1997), inibindo a enzima tirosina-hidroxilase (TH) celular (KUHN *et al.*, 1999) e resultando em uma síntese incompleta de ATP (BERMAN & HASTINGS, 1999). A proporção entre a glutathione reduzida e a glutathione oxidada (GSH/GSSG) é reduzida durante a degeneração, propiciando, então, a formação de mais radicais livres (SIAN *et al.*, 1994; SOFIC *et al.*, 1992). O prejuízo na remoção dos radicais livres dependente do GSH pode ser devido ao aumento do *turnover* que poderia, por ele mesmo, aumentar a produção basal de H_2O_2 e então depletar os estoques de GSH (RIEDERER *et al.*, 1989). Esta depleção de GSH tem sido relacionada à toxicidade da dopamina e H_2O_2 em cultura (SHANG *et al.*, 2003).

Estudos *post-mortem* têm demonstrado consistentemente que o estresse oxidativo é um sinal histopatológico não apenas em neurônios saudáveis, mas também em patologias humanas do sistema nigral. Modificações carboxílicas, indicativas da peroxidação protéica, estavam aumentadas duas vezes na substância negra de pacientes parkinsonianos em comparação a indivíduos normais (FLOOR & WETZEL, 1998). Em adição, níveis de 4-hidroxi-2,3-nonenal (HNE), um aldeído produzido durante a peroxidação lipídica, e 8-hidroxiguanosina, um produto da oxidação nucleosídica, estavam aumentados aproximadamente 6 e 16 vezes, respectivamente, na substância negra de pacientes portadores da doença de Parkinson em relação a indivíduos controle (ZHANG *et al.*, 1999). O HNE tem demonstrado modificar proteínas (CAMADOLA *et al.*, 2000), bloquear a

respiração mitocondrial (PICKLO *et al.*, 1999) e induzir a apoptose dependente de caspases (LIU *et al.*, 2000).

1.3.4 Excitotoxicidade

O prejuízo causado pelo excesso de glutamato, o qual altera a permeabilidade das células para o cálcio através da ação em receptores NMDA, demonstrou estar associado à neurodegeneração presente na doença de Parkinson (von BOHLEN und HALBACH *et al.*, 2004).

O influxo intenso de cálcio provoca a ativação da enzima óxido nítrico sintase (NOS), a qual converte a L-arginina em citrulina e óxido nítrico (NO). A maioria das ações neurotóxicas do NO foram mediadas pelo peroxinitrito (ONOO^-), o produto da reação do ânion superóxido e do NO (DAWSON & DAWSON, 1996). Três enzimas são responsáveis pela produção de NO e incluem a NOS neuronal (nNOS, tipo I); a NOS induzida (iNOS, tipo II), a qual é produzida em grande escala pela ativação da microglia; e a NOS endotelial (eNOS, tipo III). No Sistema Nervoso Central, o NO reage rapidamente com o O_2^- para formar o radical ONOO^- , o mais reativo das espécies reativas de nitrogênio (RNS) (EMERIT *et al.*, 2004). Além disso, a expressão da iNOS é elevada em cérebros de pacientes portadores da doença de Parkinson (HUNOT *et al.*, 1996). Esta maior expressão da iNOS resulta na elevação dos níveis de NO e à formação de mais radicais ONOO^- . Finalmente, altos níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS) poderiam induzir a excitotoxicidade secundária, na qual ocorre aumento do cálcio livre celular em associação ao aumento dos níveis de NO intracelular (BLUM *et al.*, 2001).

Além do NO, os neurônios dopaminérgicos nigroestriatais são ricos em receptores glutamatérgicos e recebem inervação do córtex e do núcleo subtalâmico. O excesso de cálcio mediado pela ativação dos receptores NMDA é amplamente acumulado na mitocôndria da substância negra e estriado, afetando o potencial de membrana mitocondrial, a síntese de ATP, a glicólise, aumentando a produção de ROS, levando assim à falência da homeostase citoplasmática e promovendo a morte celular (NICHOLLS & BUDD, 1998). A evidência do papel do

glutamato mediando a excitotoxicidade na doença de Parkinson foi reportada através de estudos animais demonstrando que antagonistas dos receptores NMDA seriam capazes de proteger os neurônios dopaminérgicos contra o tratamento com MPTP em ratos (TURSKY *et al.*, 1991) e primatas (GREENAMYRE *et al.*, 1994). Mais ainda, dados a partir de estudos humanos *post-mortem* indicaram que o sistema glutamatérgico poderia contribuir para o desenvolvimento da doença de Parkinson; a avaliação dos sítios de ligação do glutamato em cérebros de indivíduos controle e pacientes parkinsonianos por autorradiografia revelou uma redução dos receptores NMDA, bem como dos receptores AMPA, enquanto que os sítios de ligação dos receptores metabotrópicos permaneceram inalterados na substância negra parte compacta (DIFAZIO *et al.*, 1992). Em adição, uma redução da recaptação glutamatérgica plaquetária foi evidenciada em pacientes portadores desta patologia (FERRARESE *et al.*, 2001).

O agente responsável pelo início da toxicidade dopaminérgica na substância negra de pacientes portadores da doença de Parkinson ainda é desconhecido. Entretanto, a própria dopamina pode induzir esta toxicidade através da inibição mitocondrial e, seus subprodutos, como as ROS e dopamina-quinona, poderiam gerar toxicidade através de modificações deletérias de biomoléculas. Mais ainda, o excesso de neuromelanina, bem como os neurônios dopaminérgicos que estão morrendo, poderiam ativar a micróglia, a qual, por sua vez poderia levar ao aumento da toxicidade dopaminérgica através da produção de citocinas, e uma maior quantidade de ROS e RNS formados. Esta maior produção de radicais livres e citocinas poderia então, levar a um ciclo vicioso, o qual aumentaria a toxicidade dopaminérgica na substância negra parte compacta (HALD & LOTHARIUS, 2005).

1.4. A Neuroinflamação na Doença de Parkinson

Estudos experimentais e *post-mortem* sugerem que a inflamação está presente tanto em lesões agudas do Sistema Nervoso Central quanto em doenças neurodegenerativas (MARCHETTI & ABBRACCHIO, 2005). A astróglia e micróglia

cerebrais representam a maioria das células envolvidas na neuroinflamação e morte neuronal. As células da glia correspondem a um completo e eficiente sistema imune inato (HAWEL *et al.*, 2005) e assim, sob condições patológicas, a desregulação ou ativação glial excessiva poderia resultar na morte neuronal.

Os astrócitos promovem atividades essenciais que protegem o tecido e sua função, além de promover o reparo neuronal, na produção de substratos energéticos e neurotrofinas. Esta população de células é capaz de reduzir a liberação do glutamato e radicais livres, restabelecer a barreira hematoencefálica e promover a neurovascularização e neurogênese (LIBERTO *et al.*, 2004). Entretanto, a reação astrócita excessiva resulta na falência da reparação da barreira hematoencefálica, infiltração leucocitária, desmielização severa e morte de células oligodendrócitos (FAULKNER *et al.*, 2004). Similarmente, após ativação, a micróglia foi capaz de produzir metabólitos que provocam a morte neuronal e impediram a neurogênese hipocampal em humanos (MONJE *et al.*, 2003). Mais ainda, evidências demonstraram que a deterioração ou disfunção da micróglia devido ao avanço da idade, poderia contribuir para a neurodegeneração presente na doença de Parkinson (STREIT, 2005). Assim, quando a micróglia é cronicamente ativada em associação às ROS e RNS, estes são extremamente neurotóxicos (MARCHETTI & ABBRACCHIO, 2005).

A evidência para uma reação inflamatória crônica cerebral é particularmente forte na doença de Alzheimer (McGEER & McGEER, 2003), porém existem estudos sugerindo que uma reação imune local ocorre em regiões cerebrais afetadas na doença de Parkinson (McGEER & McGEER, 2004).

A primeira evidência do envolvimento da inflamação na doença de Parkinson foi descrita em 1988, quando McGEER *et al.* descreveram o aumento da classe II do principal complexo de moléculas de histocompatibilidade (MHC) em amostras *post-mortem* de cérebros parkinsonianos. Em adição, este estudo também reportou um pequeno número de linfócitos T CD-8 positivos ao redor de neurônios degenerados na substância negra destes pacientes. HUNOT *et al.* (1999) também demonstraram um aumento na densidade de células interferon γ -positivos na substância negra de pacientes portadores da doença de Parkinson,

compatível com a presença de linfócitos. Estes dados sugerem que uma infiltração de células imunes através da barreira hematoencefálica também poderia participar na fisiopatologia da doença. Mais ainda, alterações nas subpopulações de células linfocíticas têm sido observadas no sangue e fluido cerebrospinal destes pacientes (ORR *et al.*, 2002; HIRANAGA *et al.*, 2001), incluindo uma redução de células T CD4⁺CD45RA⁺ e aumento das células T CD4⁺CD45RO⁺ (BAS *et al.*, 2001). Todos estes dados sugerem que o funcionamento da substância negra de pacientes parkinsonianos é alterado durante o processo patológico e que tais alterações não envolvem apenas neurônios e células gliais, mas também células imunes periféricas e capilares cerebrais (HIRSCH *et al.*, 2005).

Além da alteração nas células linfocíticas, a microglia ativada na doença de Parkinson promoveu a liberação de fatores pró-inflamatórios e neurotóxicos. Estes fatores incluíram citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral α (TNF- α) e a interleucina 1 β (IL-1 β), interleucina-2, interleucina-4, interleucina-6, fator de crescimento tumoral- β (TGF- β), RNS, proteases, ROS, eicosanóides (como a prostaglandina E₂ – PGE₂) e aminoácidos excitatórios (LIU & HONG, 2003; MERRILL & BENVENISTE, 1996). Além disso, a expressão da isoforma da enzima ciclooxigenase-2 (COX-2) também se mostrou aumentada na substância negra de pacientes portadores da doença de Parkinson (TEISMANN *et al.*, 2003), sugerindo que as isoformas da ciclooxigenase (COX) (PATRIGNANI *et al.*, 2005) estariam envolvidas no desenvolvimento da doença de Parkinson (TEISMANN *et al.*, 2003). Este estudo demonstrou que a expressão da COX-2 foi especificamente induzida nos neurônios dopaminérgicos da substância negra parte compacta em amostras *post-mortem* de pacientes parkinsonianos e também durante a destruição da via nigroestriatal do modelo animal do MPTP (TEISSMANN *et al.*, 2003). Embora as áreas cerebrais afetadas na doença de Parkinson e no modelo animal do MPTP sejam celularmente diferentes, a imunorreatividade para COX-2 foi essencialmente encontrada nos neurônios dopaminérgicos tanto no modelo do MPTP quanto nas amostras *post-mortem* de pacientes portadores da doença de Parkinson (TEISSMANN *et al.*, 2003). Assim, estes resultados demonstraram que o aumento da expressão da COX-2 poderia amplificar o processo

neurodegenerativo especificamente nos neurônios dopaminérgicos da substância negra parte compacta, resultando em uma maior vulnerabilidade destes neurônios para o desenvolvimento da doença de Parkinson ou à toxicidade do MPTP (TEISSMANN *et al.*, 2003). Mais ainda, o aumento da expressão da COX-2 neuronal foi capaz de matar neurônios a partir da formação de ROS durante a conversão de PGG₂ para PGH₂ na síntese de prostanóides (SMITH, 1991).

A COX converte o ácido araquidônico em PGH₂, o precursor da PGE₂, e também outros prostanóides e está presente em duas principais isoformas: a COX-1, a qual é constitutivamente expressa em muitas células e está envolvida em processos fisiológicos relevantes, enquanto que a isoforma COX-2 não está normalmente presente nas células e está principalmente relacionada à produção de prostanóides envolvidos nos processos inflamatórios (TEISSMANN *et al.*, 2003) (para maiores detalhes ver Tabela 1).

Tabela 1.
Evidências da Inflamação na Doença de Parkinson

	Referências
1. Dados em Humanos	
-Elevados níveis de anticorpos para proteínas modificadas pelos produtos da oxidação da dopamina em pacientes parkinsonianos	ROWE <i>et al.</i> , 1998
- Aumento das citocinas no fluido cerebrospinal e estriado de pacientes portadores da doença de Parkinson	BLUM-DEGEM <i>et al.</i> , 1995 MOGI <i>et al.</i> , 1994a,b MULLER <i>et al.</i> , 1998
- Ativação da micróglia em cérebros de pacientes parkinsonianos	McGEER <i>et al.</i> , 1988
- Ativação da micróglia após exposição ao MPTP anos após administração da droga	LANGSTON <i>et al.</i> , 1999
- Redução do risco de desenvolvimento da doença de Parkinson após administração prolongada com antiinflamatórios não esteroidais	CHEN <i>et al.</i> , 2003
2. Dados Pré-Clínicos	
- Vários modelos animais da doença de Parkinson (MPTP, 6-OHDA, LPS, rotenona) mostrando ativação da micróglia	CICCHETTI <i>et al.</i> , 2002 SHERER <i>et al.</i> , 2003
- Camundongos knockout para COX-2 menos responsivos à neurointoxicação induzida por MPTP	FENG <i>et al.</i> , 2002
- NOS induzida está aumentada em modelos animais da doença de Parkinson	IRAVANI <i>et al.</i> , 2002 WU <i>et al.</i> , 2002
- Inibidores da NOS induzida conferem neuroproteção em modelos animais da doença de Parkinson	HEMMER <i>et al.</i> , 2001 IRAVANI <i>et al.</i> , 2002
- TNF- α , IL-1, IL-6 e excesso de NO são neurotóxicos	ALLAN & ROTHWELL, 2001 FISHER <i>et al.</i> , 2001 LIU <i>et al.</i> , 2002 SRIRAM <i>et al.</i> , 2002

Adaptado de: HALD & LOTHARIUS, 2005.

1.4.1 Antiinflamatórios na Doença de Parkinson

Dado que a inflamação é um fator essencial para o processo de neurodegeneração crônica nos modelos animais da doença de Parkinson, foi proposta que a inibição da inflamação poderia ser uma estratégia neuroprotetora promissora (GAO *et al.*, 2003).

Neste sentido, dentre os medicamentos capazes de inibir a inflamação, a dexametasona, um antiinflamatório esteroidal, foi utilizada para inibir parcialmente a reação da micróglia e reduzir a produção de citocinas pró-inflamatórias e conseqüentemente atenuar a degeneração dos neurônios dopaminérgicos induzidos pelo MPTP em camundongos (KURKOWSKA-JASTRZEBSKA *et al.*, 2004; KURKOWSKA-JASTRZEBSKA *et al.*, 1999) e lipopolissacarídeo (LPS) (CASTANO *et al.*, 2002). KURKOWSKA-JASTRZEBSKA *et al.* (2004), observaram que a administração intraperitonal de dexametasona foi capaz de prevenir parcialmente a perda neuronal, além de reduzir a resposta inflamatória induzida por MPTP em camundongos. Entretanto, outro estudo demonstrou resultado contraditório, indicando que a dexametasona falhou em proteger os neurônios dopaminérgicos contra a neurotoxicidade induzida pelo MPTP (AUBIN *et al.*, 1998). Deste modo, verifica-se a ausência de consenso na literatura quanto ao efeito deste antiinflamatório. Além disso, os efeitos adversos decorrentes do uso de antiinflamatórios esteroidais tornam a sua administração crônica praticamente impossível. A dexametasona é um potente antiinflamatório esteroidal, a qual atua antagonizando a proteína ativadora-1 (AP-1) e o fator NF- κ B, que são elementos promotores da transcrição de moléculas inflamatórias (UNLAP & JOPE, 1995a; UNLAP & JOPE, 1995b). Os glicocorticóides inibem a produção de duas enzimas envolvidas na síntese de prostaglandinas: a COX-2 e a fosfolipase A₂. O tratamento com dexametasona também reduziu a produção das citocinas pró-inflamatórias, incluindo a IL-1 β e TNF- α . No cérebro, a dexametasona interferiu na ativação da micróglia, inibindo a expressão da classe MHC II, e diminuindo a expressão de COX-2 e iNOS (MINGHETTI *et al.*, 1999). Em adição, este antiinflamatório também inibiu a proliferação da micróglia *in vitro*

(TANAKA *et al.*, 1997). No entanto, um estudo clínico utilizando prednisona, um outro agente antiinflamatório esteroidal, não demonstrou efeitos neuroprotetores no tratamento da doença de Alzheimer (AISEN *et al.*, 2000), seja pela baixa dose administrada nos pacientes ou pelos vários efeitos adversos decorrentes do tratamento. De modo relevante para o nosso estudo, WROBEL *et al.* (2005) demonstraram que a administração de dexametasona foi capaz de reduzir a estimulação locomotora induzida pela anfetamina e bromocriptina em camundongos. Segundo estes autores, este efeito seria devido à ação da dexametasona sobre os receptores glicocorticóides no sistema límbico.

Esta limitação em relação aos antiinflamatórios esteroidais possibilitou o estudo de drogas antiinflamatórias não-esteroidais (AINES) como agentes neuroprotetores potenciais para o tratamento da doença de Parkinson (GAO *et al.*, 2003). Neste sentido, CHEN *et al.* (2003) demonstraram que o uso prolongado de AINES foi capaz de reduzir em aproximadamente 45% o risco de desenvolvimento da doença de Parkinson em humanos. Assim, o uso de AINES poderia resultar em neuroproteção na doença de Parkinson, através de mecanismos capazes de inibir a resposta inflamatória (HALD & LOTHARIUS, 2005). De fato, a habilidade dos AINES em suprimir radicais hidroxilas e NO poderia resultar em proteção dos neurônios dopaminérgicos expostos ao estresse oxidativo (CHEN *et al.*, 2003). Mais ainda, a inibição da COX-2 em camundongos resultou na proteção contra a perda celular dopaminérgica induzida por MPTP (FENG *et al.*, 2002), sugerindo que os AINES realmente exercem seus efeitos neuroprotetores através da inibição da COX-2. Entretanto, TEISMANN *et al.* (2003) demonstraram que o efeito neuroprotetor da inibição da COX-2 contra MPTP *in vivo* não foi devido apenas à redução da ativação da micróglia, mas foi também associada ao bloqueio da oxidação dopaminérgica mediada pela COX-2. Em adição, a COX-2 tem sido demonstrada como catalisadora da oxidação da dopamina em dopamina-quinona na presença de H_2O_2 *in vitro* (HASTINGS, 1995). Assim, a inibição da COX-2 poderia levar à redução das alterações neurotóxicas *in vivo* mediadas pela cistenil-dopamina (HALD & LOTHARIUS, 2005). MONJE *et al.* (2003) demonstraram

também que a administração dos AINES poderiam restaurar a neurogênese hipocampal em humanos através da atenuação da reação da micróglia.

Dentre os antiinflamatórios não esteroidais, o inibidor não seletivo da COX, o salicilato sódico (SA), demonstrou atenuar significativamente a depleção estriatal dopaminérgica causada pelo MPTP, cujo efeito foi independente da inibição de prostaglandinas, mas foi associado à redução da produção de radicais hidroxila (SAIRAM *et al.*, 2003). O ácido salicílico e o paracetamol mostraram neuroproteção em modelos animais da doença de Parkinson induzidos pelo cianeto de potássio (KCN) (SAIRAM *et al.*, 2003; MOHANAKUMAR *et al.*, 2000), promovendo a redução da produção do ânion superóxido, bem como a redução da peroxidação lipídica induzida por esta substância (MAHARAJ *et al.*, 2004). A indometacina, outro inibidor não seletivo da COX, demonstrou proteger os neurônios dopaminérgicos contra a neurotoxicidade induzida pelo MPTP, sendo que este efeito foi associado à redução da ativação da micróglia e à redução das áreas de infiltração dos linfócitos (KURKOWSKA-JASTRZEBSKA *et al.*, 2002). A indometacina é um antiinflamatório não esteroideal não seletivo, o qual atua ao inibir ambas isoformas da COX. Estudos têm avaliado os efeitos da indometacina como possível agente terapêutico em doenças neurodegenerativas. De fato, KURKOWSKA-JASTRZEBSKA *et al.* (2002) mostraram que a administração de indometacina promoveu neuroproteção contra a toxicidade induzida pelo MPTP em camundongos. Em adição, foi verificado que a administração de indometacina provocou a neurogênese em um modelo de isquemia focal em ratos (HOEHN *et al.*, 2005). YAO *et al.* (2004) observaram que a administração de indometacina foi capaz de reduzir o estresse oxidativo, a ativação da micróglia e a redução de placas beta-amilóides no neocórtex e hipocampo em um modelo transgênico da doença de Alzheimer. Entretanto, BLAIS *et al.* (2005) verificaram que a inibição da COX por antiinflamatórios não seletivos possui propriedades pró-inflamatórias, devido à capacidade de alteração dos níveis de glicocorticóides plasmáticos, afetando a resposta imune inata após administração de LPS em camundongos. Mais ainda, o mesmo estudo de KURKOWSKA-JASTRZEBSKA *et al.* (2002) demonstraram que a administração de indometacina foi capaz de reduzir os níveis

de dopamina estriatais em camundongos. Esta redução dos níveis de dopamina poderia explicar a ausência de redução do tempo de imobilidade no teste da natação forçada, já que este parâmetro está relacionado ao sistema dopaminérgico.

Dentre os antiinflamatórios seletivos, um estudo envolvendo o inibidor seletivo da COX-2, o NS-398, demonstrou bloquear a produção de PGE₂, atenuando o dano neuronal induzido pelo LPS e, além disso, reduzindo os níveis do fator de TNF- α (ARAKI *et al.*, 2001). Em outro estudo, MAHARAJ *et al.* (2004) demonstraram que o meloxicam, um inibidor preferencial da COX-2, foi capaz de proteger roedores contra a neurotoxicidade induzida por MPTP. Entretanto, nem o diclofenaco sódico nem tampouco o celecoxib, foram capazes de proteger ratos contra a toxicidade induzida por esta neurotoxina (SAIRAM *et al.*, 2003).

A nimesulida, é uma droga antiinflamatória não-esteroidal não-carboxílica, a qual apresenta 5 a 20 vezes maior potência para a isoforma COX-2 (COX-2/COX-1=0.19). Além da atividade sobre a COX-2, a nimesulida demonstrou inibir a produção de radicais livres e a produção de células inflamatórias. Também foi reportado que a nimesulida inibiu a liberação de histamina dos mastócitos e basófilos, e também promoveu a inibição do fator de ativação plaquetária (PAF) (KULKARNI, 2002), bem como a redução da expressão do gene da COX-2 induzido por interleucina-1 β em fibroblastos sinoviais humanos (FAHMI *et al.*, 2001). Além destas propriedades, a nimesulida reduziu em 50% a elevação da interleucina-1 β induzida pelo ácido quisquálico no interior do núcleo basal de ratos, atenuando fortemente a reação da micróglia, reduzindo o número de células positivas para óxido nítrico sintase indutível e abolindo a formação de prostaglandina-E₂ (SCALI *et al.*, 2000). Entretanto, em um modelo animal da doença de Alzheimer em camundongos, a administração prolongada de nimesulida não produziu efeito sobre a formação de placas senis e sobre a atividade do fator nuclear kappa B (NF- κ B) (SUNG *et al.*, 2004). O tratamento com nimesulida em 40 pacientes portadores da doença de Alzheimer também não mostrou melhora significativa nos escores de cognição, comportamento e atividades diárias (AISEN *et al.*, 2002).

O parecoxib é uma pró-droga potente e seletivo inibidor da COX-2, e após administração, é biotransformado em valdecoxib, o seu metabólito ativo. Estudos têm demonstrado que o parecoxib, administrado parenteralmente, possui potente ação analgésica, antiinflamatória e antipirética (PADI *et al.*, 2004), sendo utilizado principalmente como tratamento pós-operatório (DESJARDINS *et al.*, 2001).

Assim, verifica-se a necessidade de mais estudos que possam ajudar a elucidar o efeito dos antiinflamatórios na etiologia e no tratamento da doença de Parkinson.

1.4.2 Modelos Animais da doença de Parkinson

1.4.2.1 O Modelo da Reserpina

O modelo animal da reserpina é também um instrumento bastante útil para estudar a depleção de monoaminas e mimetiza a doença de Parkinson. O ponto inicial da descoberta na qual uma depleção de dopamina do estriado seria responsável pelos sintomas motores da doença de Parkinson veio através da observação de CARLSSON *et al.* (1957) na qual um estado de acinesia poderia ser mimetizado em ratos pela administração sistêmica de reserpina e esta alteração motora poderia ser revertida pela administração de L-dopa. Em ratos, a reserpina induziu uma redução na atividade motora (acinesia, hipocinesia, catalepsia) e tremor em repouso (HAEFELY, 1978). A reserpina é um inibidor específico irreversível do transportador vesicular de monoaminas (VMAT-2) e foi capaz de inibir a recaptação monoaminérgica, resultando na depleção dos estoques de catecolaminas (KANDEL, 1991). De fato, tem sido estabelecido que, em altas doses, vesículas intraneuronais seriam afetadas por mecanismos dependentes de magnésio e ATP, e haveria então a depleção dos estoques de dopamina e de outros neurotransmissores, incluindo a adrenalina, a noradrenalina, a histamina e a serotonina (GERLACH & RIEDERER, 1996).

1.4.2.2 O Modelo do MPTP

A inflamação tem sido implicada no processo neurodegenerativo em modelos animais da doença de Parkinson criados a partir do uso de compostos neurotóxicos como o MPTP, 6-OHDA (6-hidroxidopamina) ou rotenona. Evidências a partir de estudos em humanos (LANGSTON *et al.*, 1999; McGEER & McGEER, 1998) e estudos em animais (GAO *et al.*, 2003; SRIRAM *et al.*, 2002; CICCHETTI *et al.*, 2002; KIM *et al.*, 2000; HERRERA *et al.*, 2000; LIBERATORE *et al.*, 1999; CASTANO *et al.*, 1998; KREUTZBERG, 1996) têm verificado a participação do processo neuroinflamatório na etiologia da doença de Parkinson.

Neste sentido, o MPTP tem contribuído muito para o estudo da morte celular presente na doença de Parkinson. Entre 1979 e 1982, um grupo de jovens da Califórnia que utilizaram heroína, desenvolveram o parkinsonismo adquirido, porém responsivo ao tratamento com L-dopa (DAVIS *et al.*, 1979). A análise da heroína mostrou que esta droga era constituída por aproximadamente 3% de MPTP (LANGSTON *et al.*, 1983). Os pacientes que fizeram uso desta substância exibiram sintomas muito similares aos sintomas presentes na doença de Parkinson, apresentando bradicinesia, rigidez, instabilidade postural e tremores em repouso. Adicionalmente, investigações *post-mortem* e neuroimagem confirmaram a lesão na substância negra parte compacta (DAVIS *et al.*, 1979).

Quando foi administrado em animais, o MPTP atravessou a barreira hematoencefálica e foi convertido, principalmente nas células da glia, na sua forma efetiva, o 1-metil-4-fenilpiridínio (MPP⁺), pela ação da MAO-B (CHIBA *et al.*, 1984). Após a recaptação, o MPP⁺ acumulou-se nas células dopaminérgicas e este acúmulo intracitoplasmático depende de duas etapas: (1) a neuromelanina forma um complexo com o MPP⁺ e retarda a sua liberação citoplasmática (D'AMATO *et al.*, 1987, 1986) e (2) os transportadores vesiculares de monoaminas (VMAT), os quais confinam a neurotoxina nas vesículas sinápticas (STAAL & SONSALLA, 2000; TAKAHASHI *et al.*, 1997). O MPP⁺ citosólico livre finalmente entra na mitocôndria (RAMSAY & SINGER, 1986) inibindo então a atividade desta organela, reduzindo os níveis celulares do ATP e subseqüentemente levando à morte celular (ver Figura 3). Entretanto, CHAN *et al.*

(1992) demonstraram que a deficiência de ATP desenvolveu-se rapidamente após a administração intraperitoneal de MPTP e permaneceu por apenas algumas horas, sendo que 24 horas após a administração da neurotoxina, os níveis de ATP já haviam retornado a níveis normais.

A administração aguda de MPTP causou uma severa redução na dopamina estriatal, dos conteúdos de ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) e ácido homovanílico (HVA) em camundongos até 14 dias após o tratamento (ARAKI *et al.*, 2004). Mais ainda, este estudo demonstrou a perda da atividade da TH e perda da imunorreatividade para o transportador da dopamina (DAT) nas fibras estriatais e células nigrais 24 horas após a administração aguda de MPTP (ARAKI *et al.*, 2004).

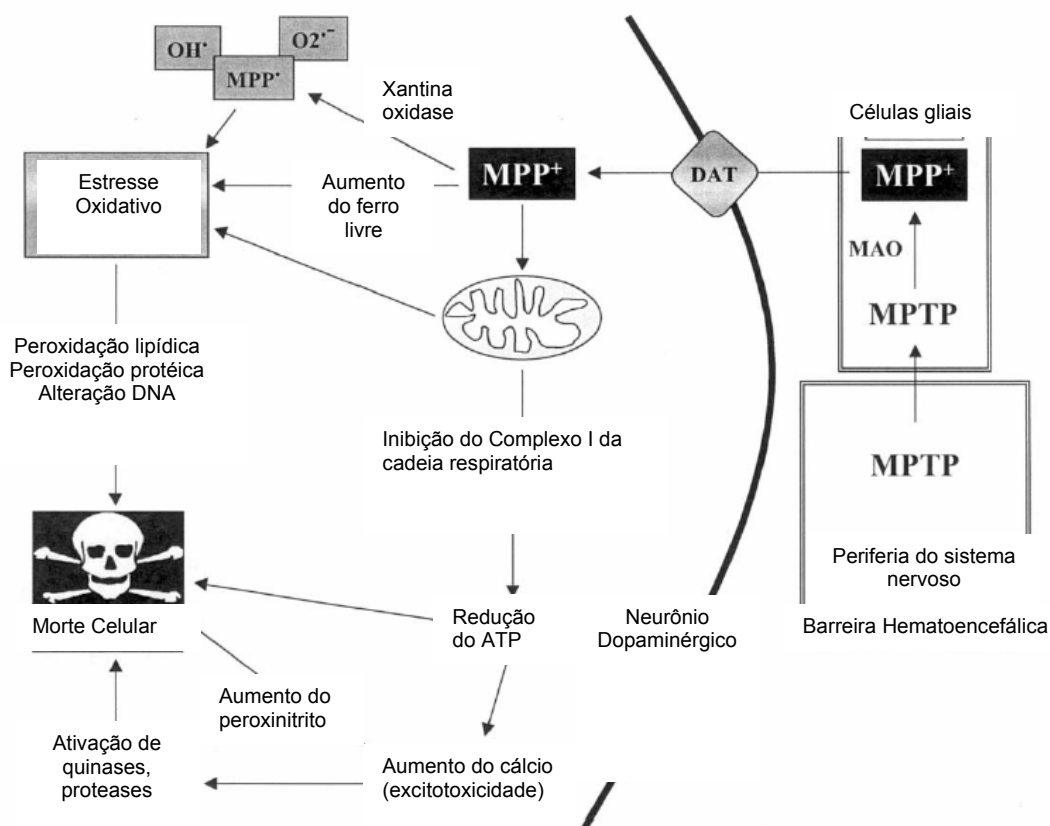


Figura 3. Mecanismo hipotético de toxicidade do MPTP. O MPTP, injetado perifericamente, atravessa a barreira hematoencefálica e é transformado pela MAO-B nas células da glia no metabólito ativo MPP⁺. Este atravessa a membrana neuronal por um transportador específico (DAT). Uma vez dentro da célula, o MPP⁺ inibe o complexo I da cadeia respiratória e também leva ao estresse oxidativo, resultando na morte celular. A inibição mitocondrial resulta na redução do ATP, também levando à morte celular. Adaptado de: BLUM *et al.* (2001).

O mecanismo de ação neurotóxico do MPTP parece envolver o ânion superóxido, principal indutor da neurotoxicidade no modelo animal do MPTP, ao promover a inibição da cadeia respiratória. No entanto, o radical superóxido é

conhecido por não ser altamente reativo, e, assim, é improvável que seja diretamente responsável pelo prejuízo induzido pelo MPTP. Mais ainda, seria mais provável que a neurotoxicidade induzida pelo superóxido resultasse da reação com outras moléculas reativas, gerando assim as espécies reativas secundárias, de prejuízo potencial maior, como o ONOO^- (PRZEDBORSKI, 2005).

Em macacos, injeções intraperitoniais de MPTP também induziram à perda dos neurônios pigmentados da substância negra parte compacta e demonstraram ativação da astróglia e micróglia (BARCIA *et al.*, 2004). Neste experimento, a reação da micróglia foi observada logo após a intoxicação com MPTP e foi observada até um ano após a última administração do MPTP, enquanto a reação da astróglia foi observada uma semana após a administração da neurotoxina (BARCIA *et al.*, 2004). A infusão de MPTP diretamente no interior da substância negra (PERRY *et al.*, 2005) também resultou na maciça perda de neurônios dopaminérgicos no estriado. Muitos estudos ainda indicaram que, além da intoxicação causada pelo MPTP nos neurônios dopaminérgicos, há também uma reação astrócita e da microglia nas regiões associadas ao aumento da expressão de iNOS e aumento da formação de nitrotirosina (WU *et al.*, 2002; DU *et al.*, 2001; LIBERATORE *et al.*, 1999). Entretanto, este modelo animal foi incapaz de promover a formação das inclusões de proteína α -sinucleína ou a imunorreatividade para ubiquitina após administração intraperitonal em camundongos (SHIMOJI *et al.*, 2005). Assim, mesmo apresentando uma significativa redução dos níveis de dopamina, de seus metabólitos (DOPAC e HVA) e a perda de neurônios dopaminérgicos, não houve formação dos corpúsculos de Lewy (SHIMOJI *et al.*, 2005).

Diante dos fatores expostos, verifica-se que, tanto a etiologia da doença de Parkinson bem como seu tratamento, são aspectos que devem ser melhor investigados. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi estudar o papel dos antiinflamatórios em modelos animais de parkinsonismo.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar o efeito dos antiinflamatórios nos modelos animais de parkinsonismo induzido pela reserpina e pelo MPTP, enfatizando as alterações motoras e comportamentais provocadas pela administração destas substâncias.

2.2 Objetivos específicos

2.2.1 Analisar o efeito das drogas antiinflamatórias nimesulida, dexametasona, indometacina e parecoxib sobre a atividade motora no campo aberto no modelo animal da reserpina;

2.2.2 Avaliar o efeito destes antiinflamatórios na versão modificada da natação forçada no modelo animal da reserpina;

2.2.3 Diferenciar os sistemas monoaminérgicos da reserpina no teste da natação forçada versão modificada;

2.2.4 Avaliar o efeito da nimesulida na alteração motora observada no campo aberto no modelo animal do MPTP;

2.2.5 Avaliar o efeito da nimesulida na versão modificada da natação forçada no modelo animal do MPTP;

2.2.6 Discriminar os sistemas monoaminérgicos do MPTP no teste da natação forçada versão modificada.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Animais

Em nosso estudo foram utilizados ratos machos da linhagem WISTAR, todos com aproximadamente 3 meses de idade, obtidos a partir de matrizes provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR).

Os animais foram mantidos em uma sala com temperatura controlada ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), em um ciclo claro-escuro de 12 horas (07:00 h – 19:00 h). Água e alimento foram fornecidos *ad libitum*.

Todos os procedimentos utilizados estão de acordo com as normas do Comitê de Ética em Pesquisa em Experimentação Animal do Setor de Ciências Biológicas da UFPR, protocolo número 0144.

3.2. Drogas

Foram utilizados em nosso experimento:

- Reserpina 1mg/kg (Sigma Chemical Co., USA), dissolvido em água bidestilada e ácido acético glacial (Sigma Chemical Co., USA);
- Nimesulida 3mg/kg (Sigma Chemical Co., USA), dissolvido em solução salina;
- Nimesulida 10mg/kg (Sigma Chemical Co., USA), dissolvido em solução salina;
- Nimesulida 25mg/kg (Sigma Chemical Co., USA), dissolvido em solução salina;
- Dexametasona 2mg/kg (Decadronal® 8mg/ml), dissolvido em solução salina;
- Indometacina 10mg/kg (Sigma Chemical Co., USA), dissolvido em solução de bicarbonato de sódio 5%;

- Parecoxib 5mg/kg (Bextra® 40mg/ml), dissolvido em solução salina;
- Imipramina 25mg/kg (Sigma Chemical Co., USA);
- Solução salina 1ml/kg (NaCl 0,9%);
- MPTP 1 μ mol (Sigma Chemical Co., USA);

3.3. O Modelo Animal da Reserpina

Os animais tiveram sua atividade motora avaliada através do modelo da reserpina. A reserpina foi administrada via intraperitoneal na concentração de 1mg/kg, 24 horas antes da realização dos testes de Campo Aberto (GERLACH & RIEDERER, 1996). A nimesulida (3 e 10mg/kg), foi administrada via intraperitoneal meia hora após a administração da reserpina. A dexametasona (2mg/kg), a indometacina (10mg/kg), o parecoxib (5mg/kg) e a imipramina (25mg/kg) foram administrados via intraperitoneal 30 min após a injeção de reserpina, 8 horas e 1 hora antes o treino da natação forçada versão modificada. A imipramina, um antidepressivo tricíclico, inibidor seletivo da recaptação de noradrenalina e serotonina, foi utilizado como controle positivo no teste da natação forçada versão modificada.

3.4. O Modelo Animal do MPTP

Uma hora antes da infusão bilateral de MPTP, os animais do grupo MPTP, SHAM e controle receberam uma injeção via intraperitoneal de nimesulida (10 e 25mg/kg) ou salina (1ml/kg). Vinte e quatro horas após a infusão do MPTP, os animais do grupo MPTP, SHAM e controle tiveram a atividade motora avaliadas no Campo Aberto. Vinte e quatro horas após a infusão do MPTP e após a primeira avaliação no teste do Campo Aberto, os animais receberam uma injeção intraperitoneal diária de nimesulida (3mg/kg e 10mg/kg) ou salina (1ml/kg) por 28 dias. A atividade motora foi avaliada novamente nos dias 7, 14, 21 e 28 dias após a infusão do MPTP ou até que os resultados dos parâmetros do último dia não

fossem mais significativamente diferentes dos resultados do primeiro dia (24 horas).

3.5. A Cirurgia Estereotáxica

Os animais submetidos à cirurgia estereotáxica foram inicialmente anestesiados com Equitesin (uma mistura de tiopental sódio + hidrato de cloral). Após a anestesia e a tricotomia, foi administrado 0,2ml de lidocaína com 2% de vasoconstritor na derme que recobre o crânio dos ratos.

Os animais do grupo MPTP foram colocados em um aparelho estereotáxico (David Kopf, modelo 957L) e receberam a microinfusão bilateral de MPTP (1 μ mol em 2.1 μ mol de salina, 0,35 μ l/min) na substância negra parte compacta, utilizando as seguintes coordenadas estereotáxicas: antero-posterior (AP): -5.0mm a partir do bregma; médio-lateral (ML): \pm 2.1mm a partir da linha média e dorso-ventral (DV): -7.7mm a partir da calota craniana, segundo PAXINOS & WATSON (1986) (para melhor visualização ver Figura 4).

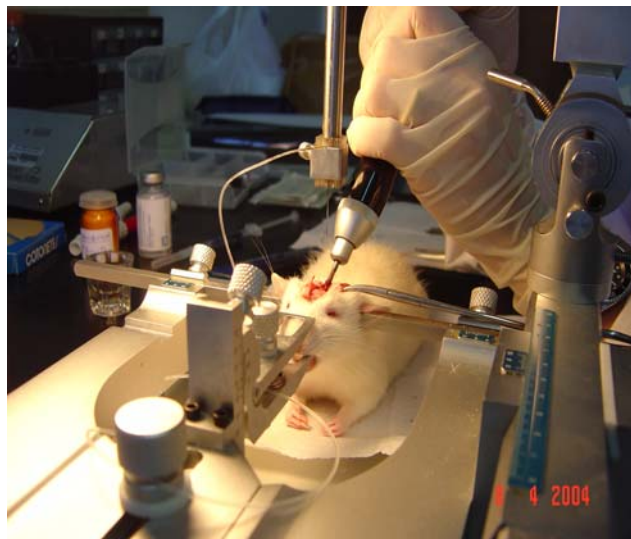
A microinfusão de MPTP foi realizada com o auxílio de uma agulha (30 gauge) conectada a um tubo de polietileno adaptado a uma micro-seringa de 10 μ l (Hamilton, USA) que, por sua vez, foi encaixada em uma bomba de infusão (Havard Apparatus, USA). Após o término da microinfusão (3 min), a agulha foi mantida no local por mais 2 min para evitar o refluxo da neurotoxina. Em seguida, o escalpo foi suturado e os animais foram retirados do estereotáxico. Os animais foram então acomodados por algumas horas em gaiolas individuais com ambiente aquecido para recuperação da anestesia, e posteriormente agrupados e encaminhados ao biotério.

O grupo SHAM foi submetido ao mesmo procedimento cirúrgico. Entretanto, os animais não receberam a infusão de MPTP, sendo somente introduzida agulha nas mesmas coordenadas estereotáxicas. Os ratos do grupo controle não foram submetidos à cirurgia, mas foram retirados da gaiola de moradia para manuseio durante alguns minutos.

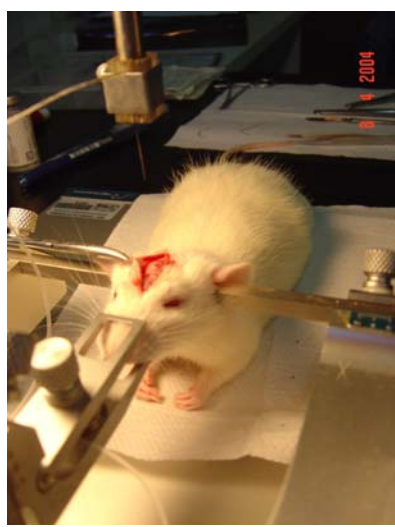
1-Tricotomia



2-Broca odontológica para perfuração da calota craniana



3-Orifício aberto para descida da agulha



4-Descida da agulha para infusão do MPTP

Figura 4. Cirurgia Estereotáxica. Os animais foram anestesiados e tricotomizados, acomodados no aparelho estereotáxico e receberam infusão intranigral de MPTP de acordo com as coordenadas a partir do bregma.

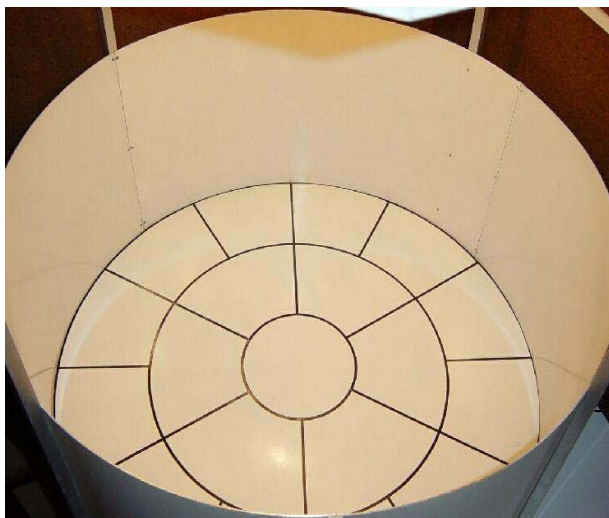
3.6. Avaliação Motora e Comportamental

3.6.1. Avaliação Motora no Campo Aberto

Este teste consistiu em se colocar o animal em uma arena de metal circular com 1 metro de diâmetro e 32,5 cm de altura, branca, dividida em 19 unidades separadas pela cor preta. Sobre a arena havia 2 lâmpadas emitindo luz brilhante e, ao redor da estrutura metálica, havia uma fina cortina que impedia que o animal visse o observador durante o experimento. O campo aberto foi construído de acordo com a descrição de BROADHURST (1960).

Os animais foram colocados individualmente no centro do campo aberto e seu comportamento foi avaliado por 5 minutos. Durante a observação foram avaliados parâmetros como frequência de locomoção (penetrar em uma unidade com as quatro patas), levantar (apoio somente nas patas traseiras, com o tronco perpendicular ao chão da arena), duração de imobilidade (ausência de atividade motora, permanecendo estático no que diz respeito à cabeça, tronco e patas) e o tempo de latência (tempo que o animal levou para deixar o primeiro quadrante no centro do aparelho) (Figura 5). O tempo dos parâmetros foi controlado através de cronômetros, e a limpeza da arena após a saída de cada animal foi feita com solução de álcool a 5%.

1-Campo Aberto



2-Frequência de locomoção



3-Frequência de levantar



4-Tempo de Imobilidade

Figura 5. Teste do campo aberto. Os parâmetros observados foram: latência para início do movimento (saída da arena central), frequência de locomoção, frequência de levantar e tempo de imobilidade.

3.6.2 Natação Forçada Versão Modificada

O procedimento foi modificado por LUCKI (1997) a partir do teste proposto por PORSOLT *et al.* (1977), e é amplamente utilizado para avaliação do efeito antidepressivo de drogas em modelos animais. O teste da Natação Forçada consistiu de duas sessões de natação separadas por um período de 24 horas. Na primeira sessão (treino), os animais foram colocados em um aquário circular com água (30cm de altura, $24\pm 1^{\circ}\text{C}$) por 15 minutos. Após um período de intensa movimentação, os animais adquirem uma postura de imobilidade, apresentando movimentos mínimos para manterem a cabeça fora da água. Na segunda sessão (teste), os animais foram submetidos ao mesmo procedimento por 5 minutos. Nesta sessão avaliou-se o tempo de escalada da parede do tanque, o tempo de natação e o tempo de imobilidade. Estes parâmetros permitem a avaliação, respectivamente, do sistema noradrenérgico e dopaminérgico, serotoninérgico e monoaminérgico (Figura 6).

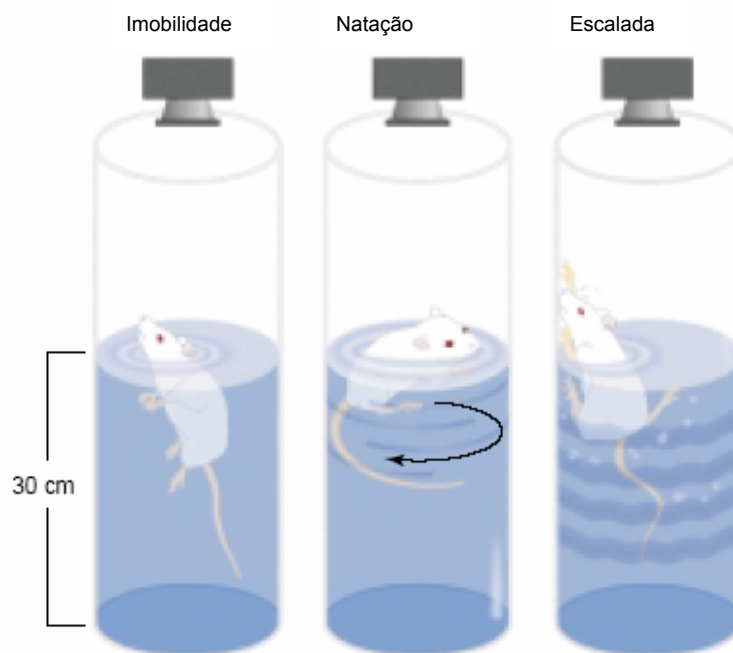


Figura 6. Teste da Natação Forçada Versão Modificada. Os parâmetros avaliados foram: tempo de imobilidade, tempo de natação e tempo de escalada. Adaptado de: CRYAN *et al.*, 2002.

3.7 Análise Estatística

Os resultados dos testes do campo aberto e natação forçada versão modificada, em ambos modelos animais de parkinsonismo, foram analisados através da Análise de Variância (ANOVA) de uma via. O test *post hoc* empregado foi o teste de Tukey. Os dados foram representados pela média±desvio padrão, sendo que a probabilidade de $p \leq 0,05$ foi considerada como sendo capaz de revelar diferenças significativas.

4. RESULTADOS

4.1. Efeito da Nimesulida (3mg/kg) na Atividade Geral de Ratos após Administração de Reserpina

Delineamento Experimental

Cinquenta ratos Wistar machos foram divididos aleatoriamente em quatro grupos: reserpina+salina (n=12), veículo+salina (n=12), veículo+nimesulida (n=12) e reserpina+nimesulida (n=14).

Os animais do grupo reserpina+salina (RES+SAL) e do grupo reserpina+nimesulida (RES+NIM) receberam uma injeção intraperitoneal de RES (1mg/kg). Trinta minutos após a administração da RES, os animais receberam uma injeção de SAL (1ml/kg) ou NIM (3mg/kg) via intraperitoneal.

Os ratos dos grupos veículo+salina (VEI+SAL) e veículo+nimesulida (VEI+NIM) receberam uma injeção intraperitoneal de VEI (1ml/kg) e trinta minutos após, receberam uma injeção de SAL (1ml/kg) ou NIM (3mg/kg) via intraperitoneal.

Vinte e quatro horas após a administração da RES ou do VEI, a atividade geral dos ratos foi avaliada no teste do campo aberto.

Resultados

Com relação ao parâmetro latência (tempo que o rato levou para iniciar o movimento), os ratos do grupo RES+SAL não apresentaram diferença significativa quando comparados aos ratos dos grupos controle, VEI+NIM e RES+NIM (Figura 7).

A avaliação da frequência de locomoção dos animais do grupo RES+SAL foi significativamente reduzida em comparação aos animais do grupo VEI+SAL.

No entanto, não houve diferença significativa deste parâmetro quando os ratos do grupo RES+SAL foram comparados aos ratos dos grupos VEI+NIM e RES+NIM (Figura 8).

Com relação à frequência de levantar e o tempo de imobilidade verificou-se que os ratos do grupo RES+SAL não apresentaram diferença significativa quando comparados aos ratos dos grupos VEI+SAL, VEI+NIM e RES+NIM (Figuras 9, 10).

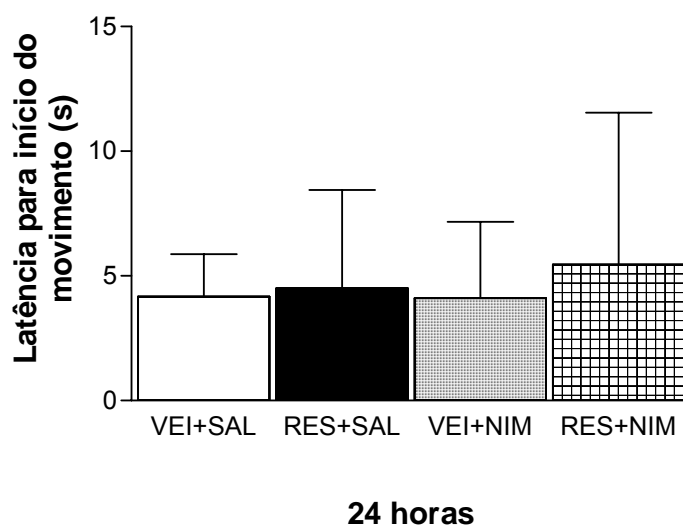


Figura 7. Efeitos da RES (1mg/Kg) e da NIM (3mg/Kg) sobre a latência para início do movimento de ratos avaliados no teste do Campo Aberto. Dados avaliados por ANOVA seguida do teste de Tukey e representam a média±desvio padrão.

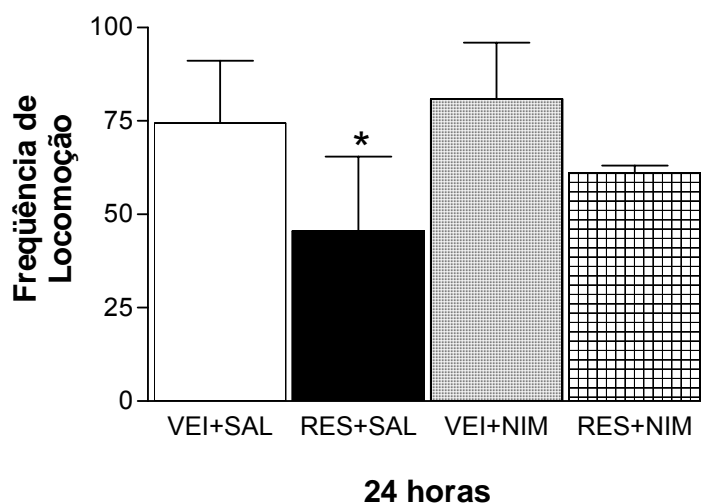


Figura 8. Efeitos da RES (1mg/Kg) e da NIM (3mg/Kg) sobre a locomoção de ratos avaliados no teste do Campo Aberto. Dados analisados por ANOVA seguida do teste de Tukey e representam a média±desvio padrão. * $p \leq 0,05$ quando comparados ao grupo VEI+SAL.

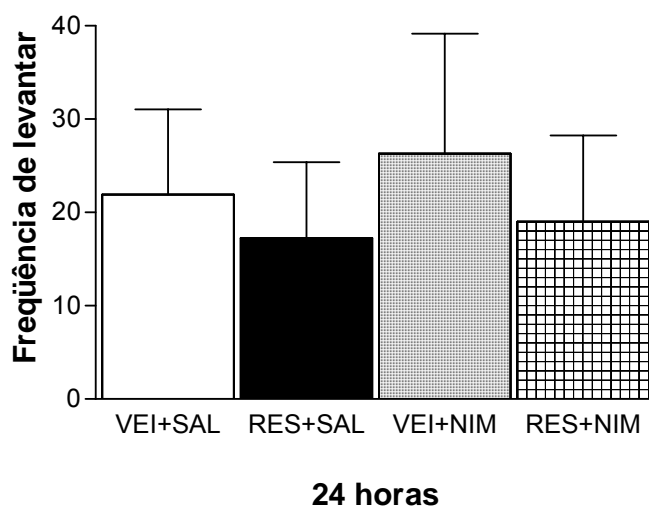


Figura 9. Efeitos da RES (1mg/Kg) e da NIM (3mg/Kg) sobre a frequência de levantar de ratos avaliados no teste do Campo Aberto. Dados analisados por ANOVA seguida do teste de Tukey e representam a média±desvio padrão.

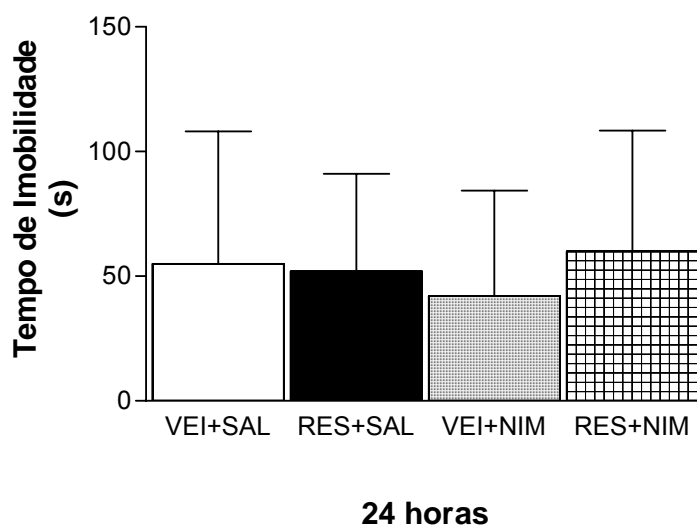


Figura 10. Efeitos da RES (1mg/Kg) e da NIM (3mg/Kg) sobre o tempo de imobilidade de ratos avaliados no teste do Campo Aberto. Dados analisados por ANOVA seguida do teste de Tukey e representam a média±desvio padrão.

4.2. Efeito da Nimesulida (10mg/kg) na Atividade Geral de Ratos após Administração de Reserpina

Delineamento Experimental

Quarenta ratos Wistar machos foram divididos aleatoriamente em quatro grupos (n=10): reserpina+salina (RES+SAL), veículo+salina (VEI+SAL), veículo+nimesulida (VEI+NIM) e reserpina+nimesulida (RES+NIM).

Os ratos do grupo RES+SAL e do grupo RES+NIM receberam uma injeção intraperitoneal de RES (1mg/kg). Trinta minutos após a administração da RES, os animais receberam uma injeção de SAL (1ml/kg) ou NIM (10mg/kg) via intraperitoneal.

Os animais dos grupos VEI+SAL e VEI+NIM receberam uma injeção intraperitoneal de VEI (1ml/kg) e trinta minutos após, receberam uma injeção de SAL (1ml/kg) ou NIM (10mg/kg) via intraperitoneal.

Vinte e quatro horas após a administração da RES ou VEI, a atividade geral dos ratos foi avaliada no teste do Campo Aberto.

Resultados

Com relação ao parâmetro latência (tempo que o rato levou para iniciar o movimento), os ratos do grupo RES+SAL apresentaram uma redução significativa quando comparados aos animais do grupo controle. Os ratos do grupo RES+NIM mostraram uma redução significativa deste parâmetro em comparação aos animais dos grupos RES+SAL (Figura 11).

A avaliação da locomoção mostrou que os ratos do grupo RES+SAL apresentaram redução significativa em comparação aos ratos do grupo VEI+SAL. Os animais dos grupos RES+SAL apresentaram redução significativa quando foram comparados aos ratos do grupo RES+NIM (Figura 12).

Na frequência de levantar e tempo de imobilidade verificou-se que os ratos do grupo RES+SAL não apresentaram diferença significativa quando comparados aos ratos dos grupos VEI+SAL, VEI+NIM e RES+NIM (Figuras 13, 14).

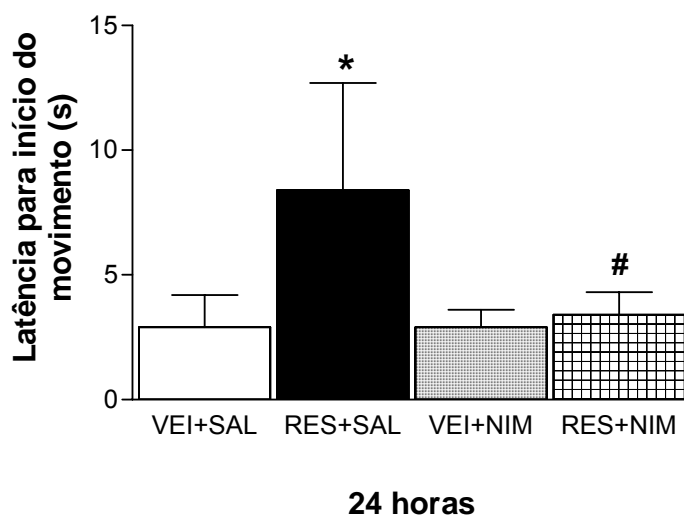


Figura 11. Efeitos da RES (1mg/Kg) e da NIM (10mg/Kg) sobre a latência de ratos avaliados no teste do Campo Aberto (n=10/grupo). Dados analisados por ANOVA seguida do teste de Tukey e representam a média±desvio padrão. * $p \leq 0,05$ quando comparados ao grupo controle. # $p \leq 0,05$ quando comparados ao grupo RES+SAL.

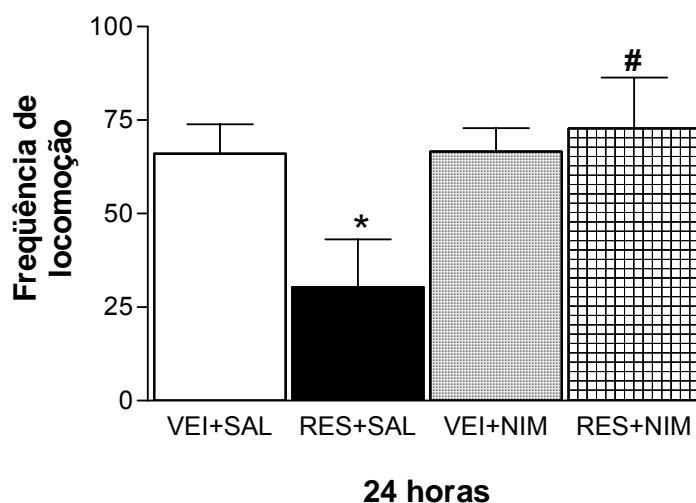


Figura 12. Efeitos da RES (1mg/Kg) e da NIM (10mg/Kg) sobre a locomoção de ratos avaliados no teste do Campo Aberto (n=10/grupo). ANOVA seguida do teste de Tukey e representam a média±desvio padrão. * $p \leq 0,05$ quando comparados ao grupo controle. # $p \leq 0,05$ quando comparados ao grupo RES+SAL.

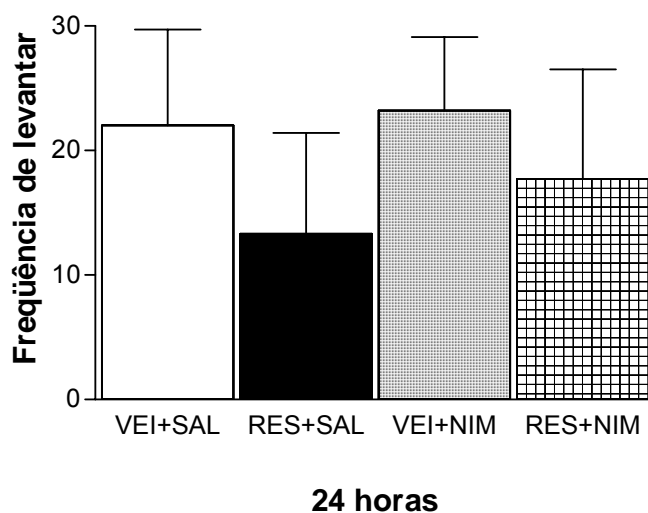


Figura 13. Efeitos da RES (1mg/Kg) e da NIM (10mg/Kg) sobre a frequência de levantar de ratos avaliados no teste do Campo Aberto (n=10). Dados analisados por ANOVA seguida do teste de Tukey e representam a média±desvio padrão.

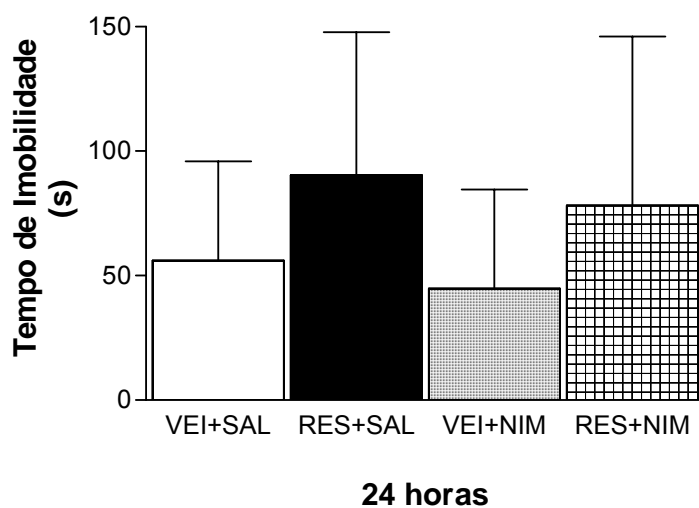


Figura 14. Efeitos da RES (1mg/Kg) e da NIM (10mg/Kg) sobre o tempo de imobilidade de ratos avaliados no teste do Campo Aberto (n=10). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão.

4.3. Efeito dos Antiinflamatórios em um Modelo Animal de Parkinsonismo Induzida por Reserpina em Ratos

Delineamento Experimental

Cento e vinte ratos machos Wistar foram divididos randomicamente nos seguintes grupos de tratamento (n=10): veículo (VEI)+salina (SAL), reserpina (RES)+SAL, VEI+dexametasona (DEXA), RES+DEXA, VEI+indometacina (INDO), RES+INDO, VEI+nimesulida (NIM), RES+NIM, VEI+parecoxib (PARE), RES+PARE, VEI+imipramina (IMI), RES+IMI.

Os animais dos grupos RES receberam uma injeção intraperitoneal de RES (1mg/kg). Trinta minutos após a administração da RES, os animais receberam uma injeção de SAL (1ml/kg), VEI (1ml/kg), DEXA (2mg/kg), INDO (10mg/kg), NIM (10mg/kg), PARE (5mg/kg) ou IMI (25mg/kg) via intraperitoneal.

Os ratos dos grupos VEI receberam uma injeção intraperitoneal de VEI (1ml/kg) e trinta minutos após, receberam uma injeção de SAL (1ml/kg), DEXA (2mg/kg), INDO (10mg/kg), NIM (10mg/kg), PARE (5mg/kg) ou IMI (25mg/kg) via intraperitoneal.

Dezesseis horas após a administração da RES ou VEI, a atividade geral dos ratos foi avaliada no teste do Campo Aberto.

Resultados

Com relação à latência para início do movimento, os resultados demonstraram que houve aumento significativo deste parâmetro nos animais do grupo RES+SAL em relação aos ratos do grupo VEI+SAL (Figura 14). Mais ainda, os animais do grupo RES+INDO exibiram aumento significativo do tempo de latência em relação aos animais do grupo VEI+INDO (Figura 15). Entretanto, observou-se redução significativa do tempo de latência dos animais dos grupos

RES+DEXA, RES+INDO, RES+NIM, RES+PARE e RES+IMI quando comparados aos ratos do grupo RES+SAL (Figura 16).

Quanto à frequência de locomoção e levantar, os ratos do grupo RES+SAL apresentaram redução destes parâmetros quando comparados aos animais do grupo VEI+SAL (Figuras 17,18). Por outro lado, os animais do grupo RES+INDO exibiram aumento significativo destes parâmetros em relação aos animais do grupo VEI+INDO (Figuras 17,18). Além disso, observou-se aumento significativo das frequências de locomoção e levantar dos animais dos grupos RES+DEXA, RES+INDO, RES+NIM, RES+PARE e RES+IMI quando comparados aos ratos dos grupos RES+SAL e VEI+SAL (Figuras 17,18).

Quanto ao tempo de imobilidade, os resultados indicaram um aumento significativo deste parâmetro nos animais do grupo RES+SAL em comparação aos ratos do grupo VEI+SAL (Figura 18). Houve também redução significativa dos animais dos grupos RES+DEXA, RES+INDO, RES+NIM, RES+PARE e RES+IMI em relação aos ratos do grupo RES+SAL (Figura 18).

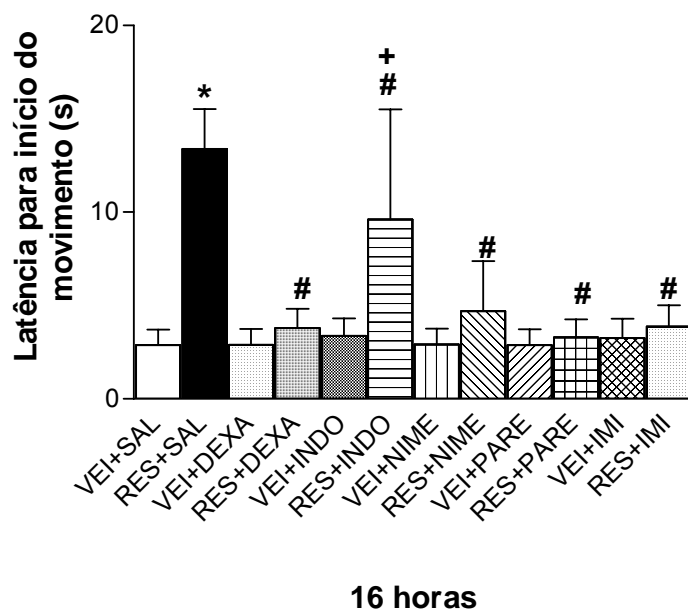


Figura 15. Efeito da administração de SAL (1ml/Kg), VEI (1ml/Kg), DEXA (2mg/Kg), INDO (10mg/Kg), NIM (10mg/Kg), PARE (5mg/Kg) ou IMI (25mg/Kg) sobre a latência para início do movimento de ratos reserpinizados (1mg/Kg) e avaliados no teste do campo aberto 16 horas após a administração de RES OU VEI (n=10/grupo). ANOVA seguida do teste de Tukey. Os dados representam a média±desvio padrão. *p≤0,05 em comparação ao grupo VEI+SAL. # p≤0,05 em comparação ao grupo RES+SAL. + p≤0,05 em comparação ao grupo VEI+INDO.

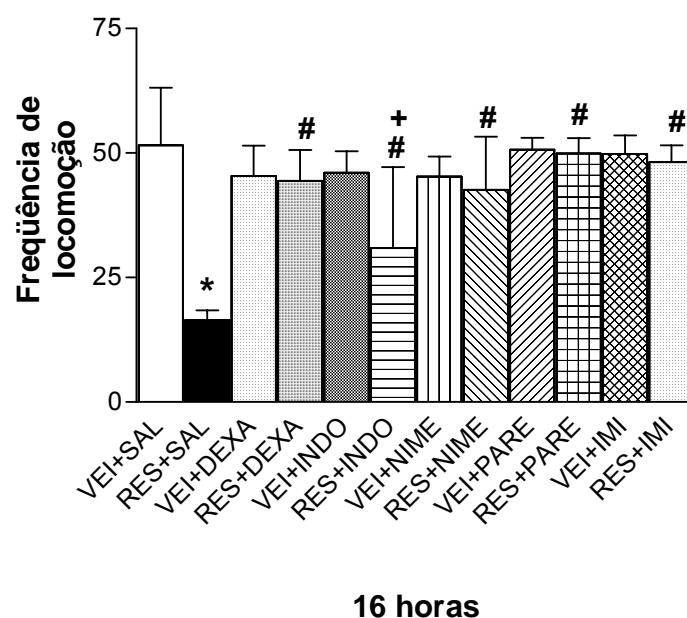
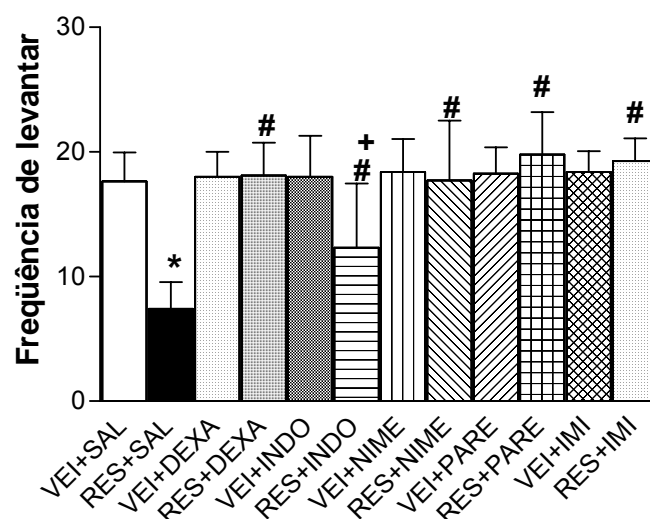
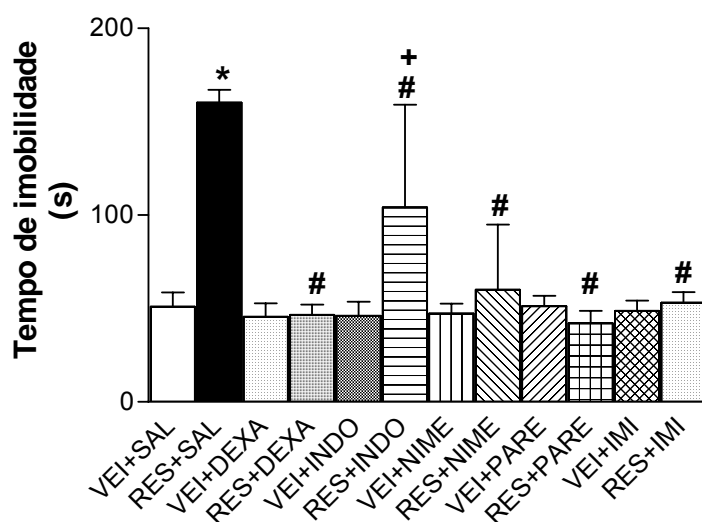


Figura 16. Efeito da administração de SAL (1ml/Kg), VEI (1ml/Kg), DEXA (2mg/Kg), INDO (10mg/Kg), NIM (10mg/Kg), PARE (5mg/Kg) ou IMI (25mg/Kg) sobre a freqüência de locomoção de ratos reserpinizados (1mg/Kg) e avaliados no teste do campo aberto 16 horas após a administração de RES OU VEI (n=10/grupo). ANOVA seguido do teste de Tukey. Os dados representam a média±desvio padrão. *p≤0,05 em comparação ao grupo VEI+SAL. # p≤0,05 em comparação ao grupo RES+SAL. + p≤0,05 em comparação ao grupo VEI+INDO.



16 horas

Figura 17. Efeito da administração de SAL (1ml/Kg), VEI (1ml/Kg), DEXA (2mg/Kg), INDO (10mg/Kg), NIM (10mg/Kg), PARE (5mg/Kg) ou IMI (25mg/Kg) sobre a frequência de levantar de ratos reserpinizados (1mg/Kg) e avaliados no teste do campo aberto 16 horas após a administração de RES OU VEI (n=10/grupo). ANOVA seguida do teste de Tukey. Os dados representam a média±desvio padrão. *p≤0,05 em comparação ao grupo VEH+SAL. # p≤0,05 em comparação ao grupo RES+SAL. + p≤0,05 em comparação ao grupo VEH+INDO.



16 horas

Figura 18. Efeito da administração de SAL (1ml/Kg), VEI (1ml/Kg), DEXA (2mg/Kg), INDO (10mg/Kg), NIM (10mg/Kg), PARE (5mg/Kg) ou IMI (25mg/Kg) sobre o tempo de imobilidade de ratos reserpinizados (1mg/Kg) e avaliados no teste do campo aberto 16 horas após a administração de RES OU VEI (n=10/grupo). Dados analisados através de ANOVA seguida do teste de Tukey. Dados representam a média±desvio padrão. *p≤0,05 em comparação ao grupo VEI+SAL. # p≤0,05 em comparação ao grupo RES+SAL. + p≤0,05 em comparação ao grupo VEI+INDO.

4.4. Efeito dos Antiinflamatórios na Natação Forçada Versão Modificada em um Modelo Animal de Parkinsonismo Induzida por Reserpina em Ratos

Delineamento Experimental

Cento e vinte ratos machos Wistar foram divididos randomicamente nos seguintes grupos de tratamento (n=10): veículo (VEI)+salina (SAL), reserpina (RES)+SAL, VEI+dexametasona (DEXA), RES+DEXA, VEI+indometacina (INDO), RES+INDO, VEI+nimesulida (NIM), RES+NIM, VEI+parecoxib (PARE), RES+PARE, VEI+imipramina (IMI), RES+IMI.

Os animais dos grupos RES receberam uma injeção intraperitoneal de RES (1mg/Kg). Trinta minutos após a administração da RES, oito horas após e 1 hora antes do treino da natação forçada, os animais receberam uma injeção de SAL (1ml/Kg), VEI (1ml/Kg), DEXA (2mg/Kg), INDO (10mg/Kg), NIM (10mg/Kg), PARE (5mg/Kg) ou IMI (25mg/Kg) via intraperitoneal. Uma hora após a última administração das drogas, os animais foram treinados por 15 minutos. Vinte e quatro horas após o treino, os ratos foram testados por 5 minutos e os parâmetros avaliados foram tempo de escalada (s), tempo de natação (s) e tempo de imobilidade (s).

Resultados

Com relação ao tempo de escalada, os animais do grupo RES+SAL não diferiram estatisticamente do grupo VEI+SAL (Figura 19). Entretanto, os animais dos grupos RES+DEXA e RES+INDO apresentaram redução significativa em relação ao grupo RES+SAL (Figura 19). Mais ainda, os ratos dos grupos RES+DEXA e RES+INDO também mostraram redução significativa do tempo de escalada em relação ao grupo VEI+SAL (Figura 19). Os animais do grupo

RES+IMI exibiram aumento significativo do tempo de escalada em relação aos ratos dos grupos RES+SAL, e VEI+IMI (Figura 19).

Quanto ao tempo de natação, os animais do grupo RES+SAL mostraram redução significativa em comparação aos animais do grupo VEI+SAL (Figura 20). Todavia, os animais dos grupos RES+INDO, RES+NIM, RES+PARE e RES+IMI mostraram aumento significativo do tempo de natação em relação aos ratos do grupo RES+SAL (Figura 20).

Em relação ao tempo de imobilidade, os resultados indicaram que os animais do grupo RES+SAL mostraram aumento significativo deste parâmetro em comparação aos ratos do grupo VEI+SAL (Figura 21). Contudo somente os animais dos grupos RES+NIM, RES+PARE e RES+IMI apresentaram redução significativa do tempo de imobilidade quando comparados aos ratos do grupo RES+SAL (Figura 21).

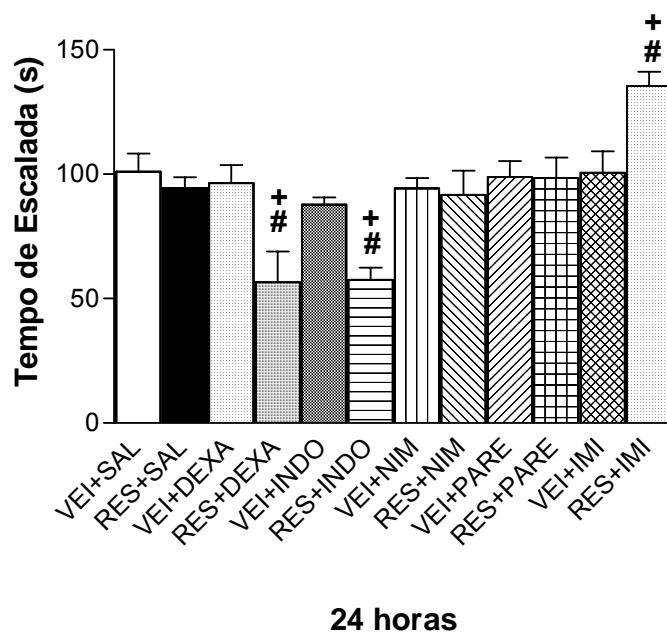
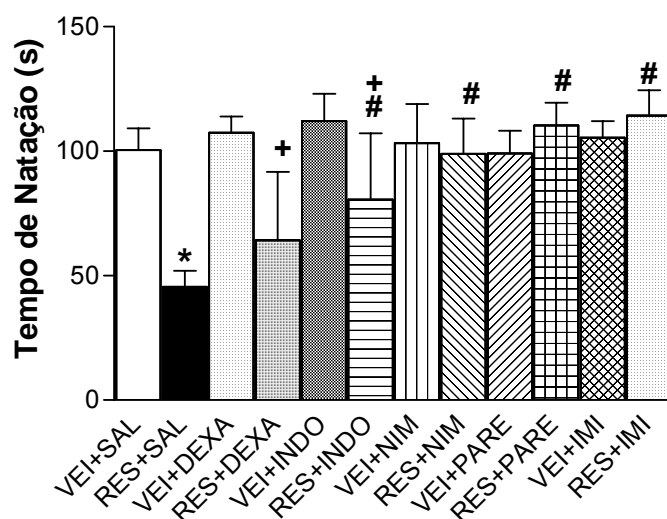
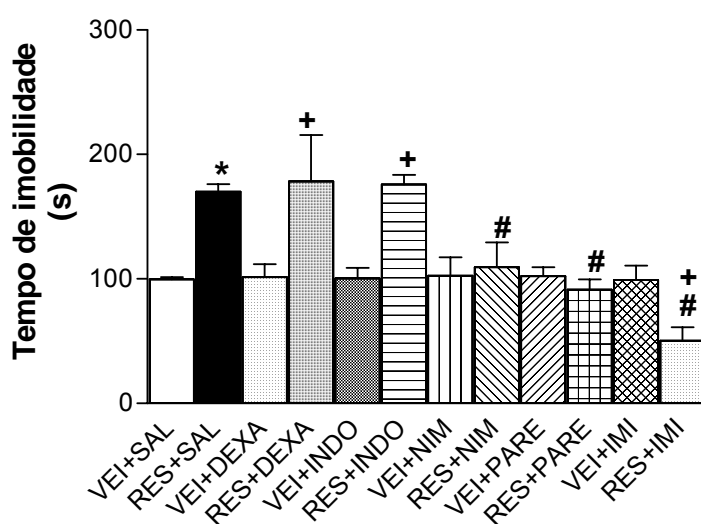


Figura 19. Efeito da administração de SAL (1ml/Kg), VEI (1ml/Kg), DEXA (2mg/Kg), INDO (10mg/Kg), NIM (10mg/Kg), PARE (5mg/Kg) ou IMI (25mg/Kg) sobre o tempo de escalada de ratos reserpinizados (1mg/Kg) e avaliados no teste da natação forçada 24 horas após a administração de RES OU VEI (n=10/grupo). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão. # $p \leq 0,05$ em comparação ao grupo RES+SAL. + $p \leq 0,05$ em comparação ao grupo VEI.



24 horas

Figura 20. Efeito da administração de SAL (1ml/Kg), VEI (1ml/Kg), DEXA (2mg/Kg), INDO (10mg/Kg), NIM (10mg/Kg), PARE (5mg/Kg) ou IMI (25mg/Kg) sobre o tempo de natação de ratos reserpinizados (1mg/Kg) e avaliados no teste da natação forçada 24 horas após a administração de RES OU VEI (n=10/grupo). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão. * $p \leq 0,05$ em comparação ao grupo VEH+SAL. # $p \leq 0,05$ em comparação ao grupo RES+SAL. + $p \leq 0,05$ em comparação ao respectivo grupo VEI.



24 horas

Figura 21. Efeito da administração de SAL (1ml/Kg), VEI (1ml/Kg), DEXA (2mg/Kg), INDO (10mg/Kg), NIM (10mg/Kg), PARE (5mg/Kg) ou IMI (25mg/Kg) sobre o tempo de imobilidade de ratos reserpinizados (1mg/Kg) e avaliados no teste da natação forçada 24 horas após a administração de RES OU VEI (n=10/grupo). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão. *p≤0,05 em comparação ao grupo VEI+SAL. # p≤0,05 em comparação ao grupo RES+SAL. + p≤0,05 em comparação ao respectivo grupo VEI.

4.5. Efeito da Nimesulida (10 e 3mg/Kg) na Atividade Geral de Ratos após Infusão Bilateral de MPTP

Delineamento Experimental

Sessenta ratos Wistar machos foram randomicamente divididos em seis grupos (n=10): controle+salina, controle+nimesulida (NIM), Sham+salina, Sham+nimesulida (NIM), MPTP+salina, MPTP+nimesulida (NIM).

Uma hora antes da cirurgia estereotóxica, os animais receberam uma injeção de salina (1ml/Kg) ou NIM (10mg/Kg) via intraperitoneal. Os animais do grupo MPTP foram operados e receberam infusão intranigral bilateral da neurotoxina, enquanto os ratos do grupo Sham foram operados mas não receberam infusão de MPTP. Os animais do grupo controle foram manipulados, porém não foram operados.

Vinte e quatro horas após a cirurgia e até o vigésimo oitavo dia, os animais receberam administração diária, via intraperitoneal, de salina (1ml/Kg) ou NIM (3mg/Kg). Vinte e quatro horas após a cirurgia estereotóxica, a atividade geral dos animais foi avaliada no teste do campo aberto. Esta avaliação no campo aberto repetiu-se 7, 14, 21 e 28 dias após a cirurgia estereotóxica.

4.5.1 Resultados - 24 horas

Na avaliação do parâmetro latência, verificou-se que os animais do grupo MPTP+salina apresentaram aumento significativo do tempo para iniciar o movimento quando comparados aos ratos dos grupos controle+salina e Sham+salina. No entanto, não houve diferença significativa na latência dos ratos do grupo MPTP+salina em comparação aos animais do grupo MPTP+NIM. Os animais do grupo MPTP+NIM apresentaram aumento significativo quando o

parâmetro latência foi comparado aos ratos dos grupos controle+NIM e Sham+NIM (Figura 22).

A avaliação da atividade motora dos ratos demonstrou uma redução significativa da frequência de locomoção dos animais que receberam a infusão de MPTP. Esta redução da locomoção do grupo MPTP+salina e MPTP+NIM foi significativa quando comparada aos animais dos grupos controle e Sham. Entretanto, não houve diferença significativa na locomoção dos ratos do grupo MPTP+salina quando comparados aos animais do grupo MPTP+NIM (Figura 23).

Mais ainda, observou-se que no parâmetro levantar, os animais do grupo MPTP+salina apresentaram redução significativa quando comparados aos ratos dos grupos controle+salina e Sham+salina. Porém, não houve diferença significativa deste parâmetro quando os animais do grupo MPTP+salina foram comparados aos do grupo MPTP+NIM. Entretanto, houve redução significativa quando os ratos do grupo MPTP+NIM foram comparados aos animais dos grupos controle+NIM e Sham+NIM (Figura 24).

Com relação ao tempo de imobilidade dos animais no teste do campo aberto, os ratos do grupo MPTP+salina apresentaram aumento significativo deste parâmetro quando comparados aos ratos dos grupos controle+salina e Sham+salina. Contudo, os ratos do grupo MPTP+salina não apresentaram diferença significativa quando foram comparados aos animais do grupo MPTP+NIM. Houve aumento significativo dos animais do grupo MPTP+NIM em comparação aos animais dos grupos controle+NIM e Sham+NIM (Figura 25).

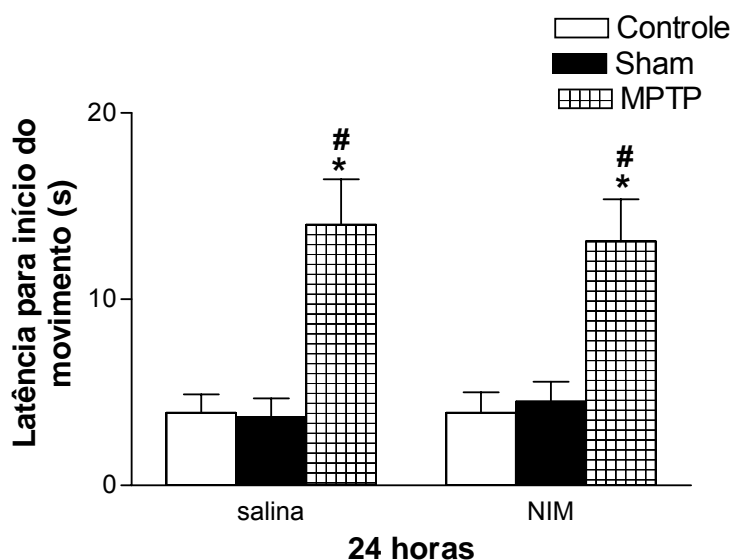


Figura 22. Avaliação da latência dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (10mg/Kg), 24 horas após a infusão de MPTP (n=10). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média \pm desvio padrão. * $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo controle. # $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo Sham.

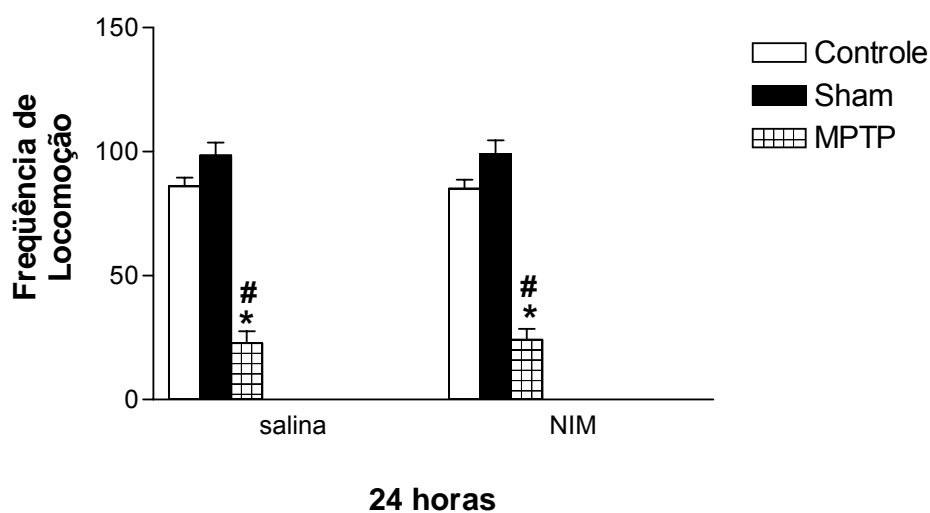


Figura 23. Avaliação da frequência de locomoção dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (10mg/Kg), 24 horas após a infusão de MPTP (n=10). Os dados foram analisados através de ANOVA seguida do teste de Tukey e representam a média \pm desvio padrão. * $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo controle. # $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo Sham.

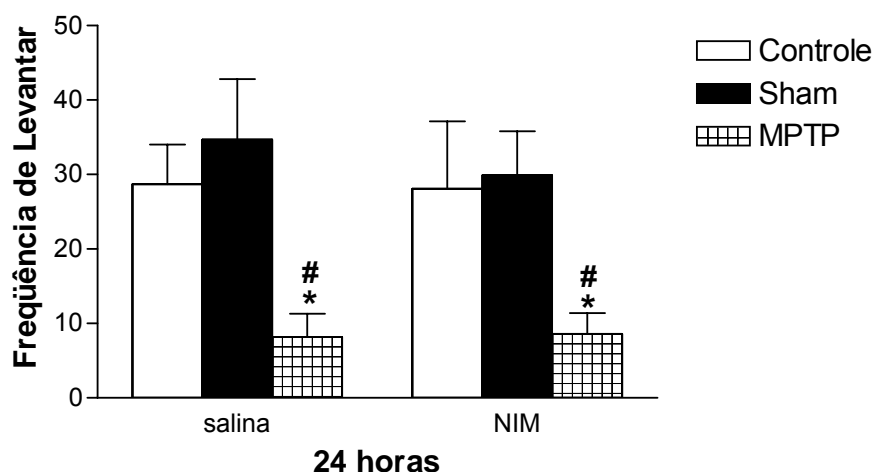


Figura 24. Avaliação da frequência de levantar dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (10mg/Kg), 24 horas após a infusão de MPTP (n=10/grupo). ANOVA seguida do teste de Tukey e dados representam a média \pm desvio padrão. *p≤0,01, em comparação ao grupo controle. # p≤0,01, em comparação ao grupo Sham.

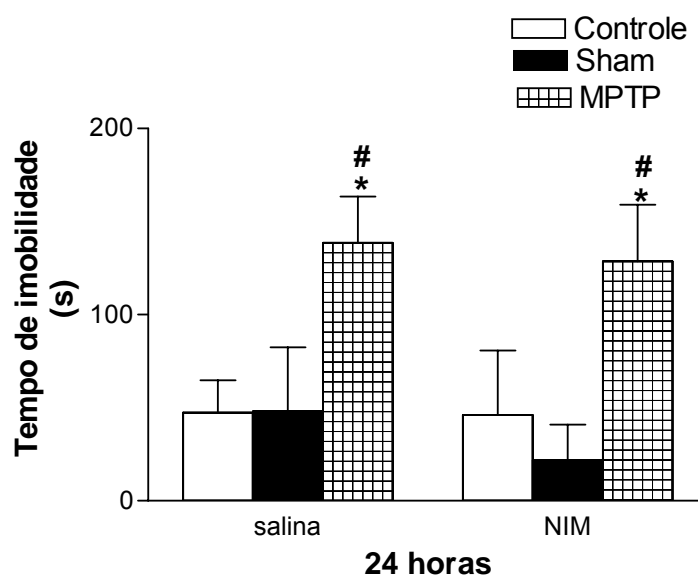


Figura 25. Avaliação do tempo de imobilidade dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou nimesulida (10mg/Kg), 24 horas após a infusão de MPTP (n=10/grupo). ANOVA seguida do teste de Tukey e dados representam a média \pm desvio padrão. *p≤0,01, em comparação ao grupo controle. # p≤0,01, em comparação ao grupo Sham.

4.5.2 Resultados – 7 dias

Na avaliação do parâmetro latência para início do movimento, não foi observada diferença significativa entre os grupos estudados (Figura 26).

Com relação à locomoção, observou-se que os ratos que receberam infusão de MPTP apresentaram uma redução deste parâmetro 7 dias após a cirurgia estereotóxica. Esta redução dos ratos do grupo MPTP+salina e MPTP+NIM foi significativa quando comparada aos animais dos grupos controle e Sham (Figura 27) Entretanto, não houve diferença significativa quando os ratos do grupo MPTP+salina foram comparados aos animais do grupo MPTP+nimesulida.

Na avaliação do parâmetro levantar e tempo de imobilidade, não foi observada diferença significativa entre os grupos estudados (Figuras 28, 29).

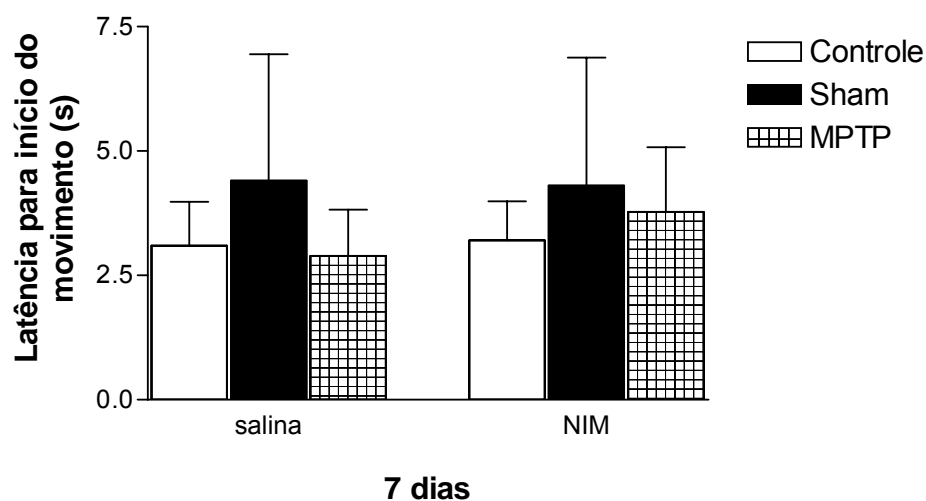


Figura 26. Avaliação da latência dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (3mg/Kg), 7 dias após a infusão de MPTP (n=10). ANOVA seguida do teste de Tukey. Dados representam a média±desvio padrão.

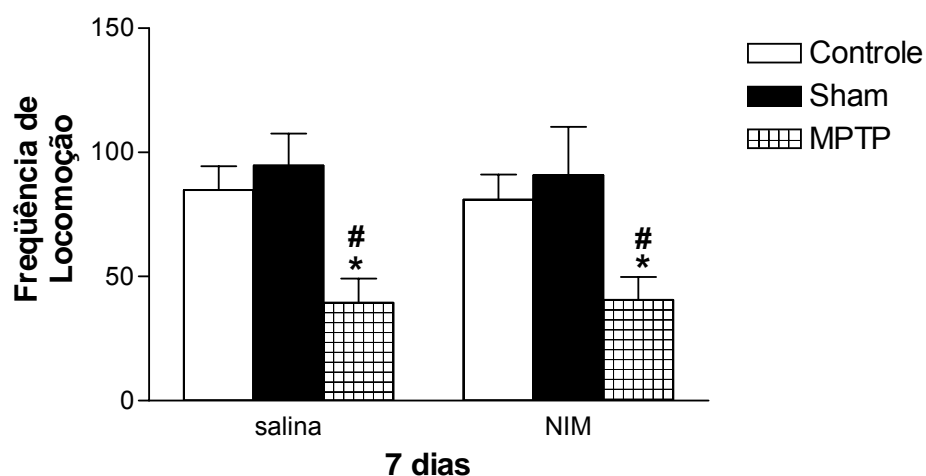


Figura 27. Avaliação da locomoção dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (3mg/Kg), 7 dias após a infusão de MPTP (n=10). ANOVA seguida do teste de Tukey. Dados representam a média±desvio padrão. * $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo ao controle. # $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo Sham.

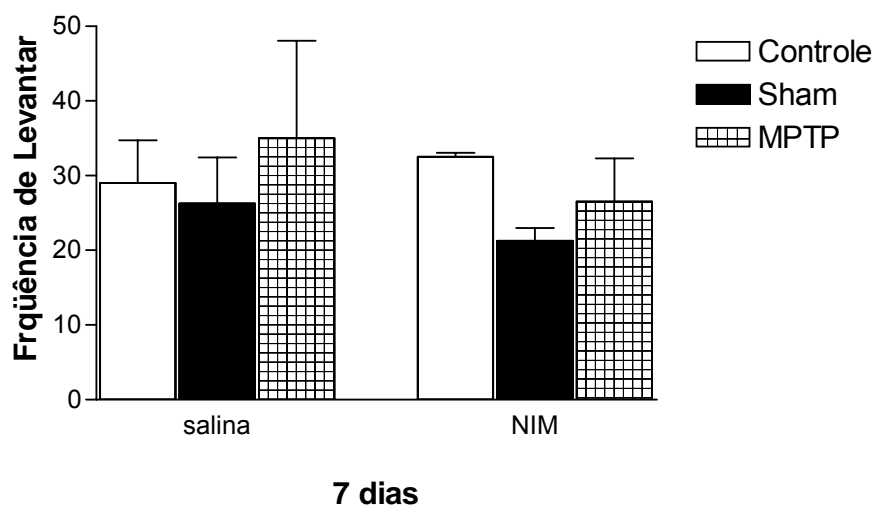


Figura 28. Avaliação da frequência de levantar dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (3mg/Kg), 7 dias após a infusão de MPTP (n=10). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão.

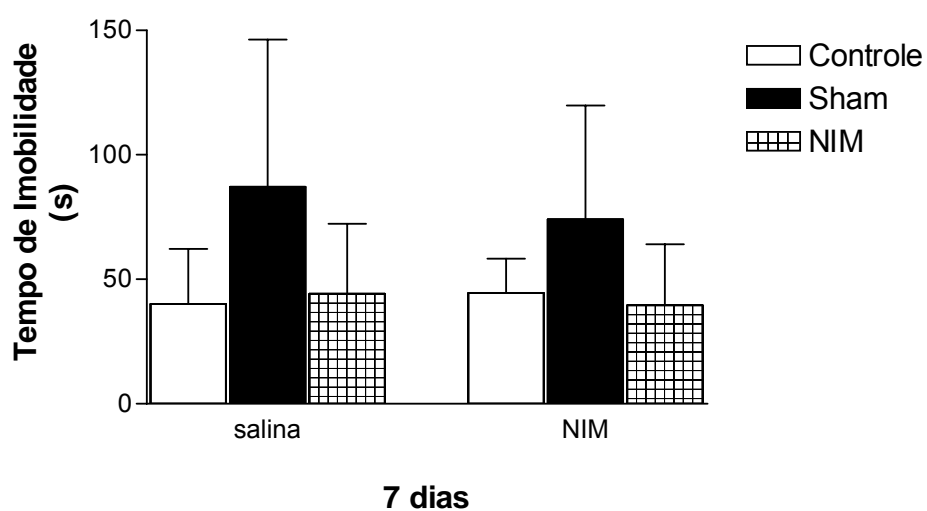


Figura 29. Avaliação do tempo de imobilidade dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (3mg/Kg), 7 dias após a infusão de MPTP (n=10). ANOVA seguida do teste de Tukey. Dados representam a média±desvio padrão.

4.5.3 Resultados – 14 dias

Na avaliação do parâmetro latência, não foi observada diferença significativa entre os animais do grupo MPTP+salina e MPTP+NIM e os grupos controle e Sham 14 dias após a lesão intranigral (Figura 30).

Com relação à locomoção, observou-se que os ratos do grupo MPTP+salina e MPTP+NIM apresentaram redução significativa deste parâmetro em comparação aos animais dos grupos controle e Sham (Figura 31). Entretanto, não houve diferença significativa quando os animais do grupo MPTP+salina foram comparados aos ratos do grupo MPTP+NIM.

Na avaliação do parâmetro levantar, não foi observada diferença significativa entre os animais do grupo MPTP+salina e MPTP+NIM e os grupos controle e Sham (Figura 32).

Na avaliação do tempo de imobilidade, observou-se aumento significativo deste parâmetro quando os animais do grupo MPTP+salina e MPTP+NIM foram comparados aos animais dos grupos controle e Sham (Figura 33). No entanto, não foi observada diferença significativa entre os animais dos grupos MPTP+salina e MPTP+NIM 14 dias após a cirurgia estereotáxica.

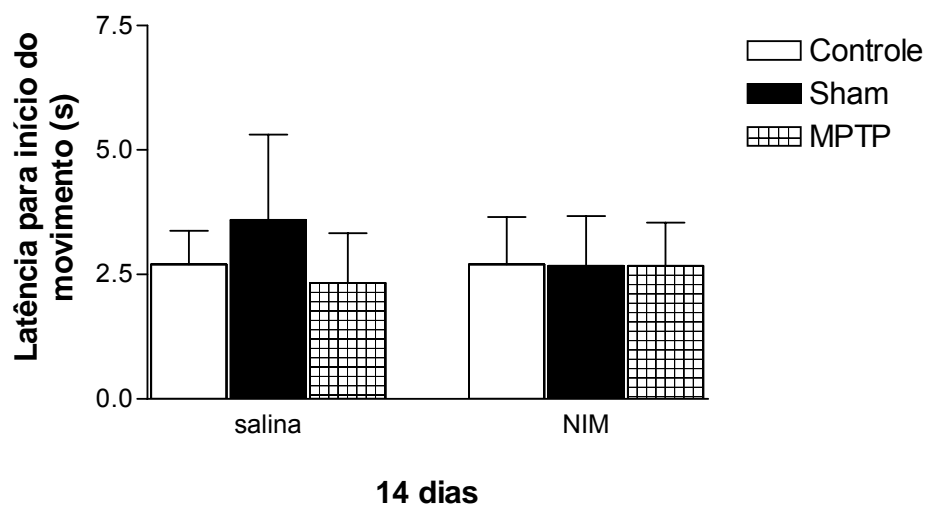


Figura 30. Avaliação da latência dos ratos tratados prolongadamente com salina (1ml/Kg) ou NIM (3mg/Kg), 14 dias após a infusão de MPTP (n=10). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão.

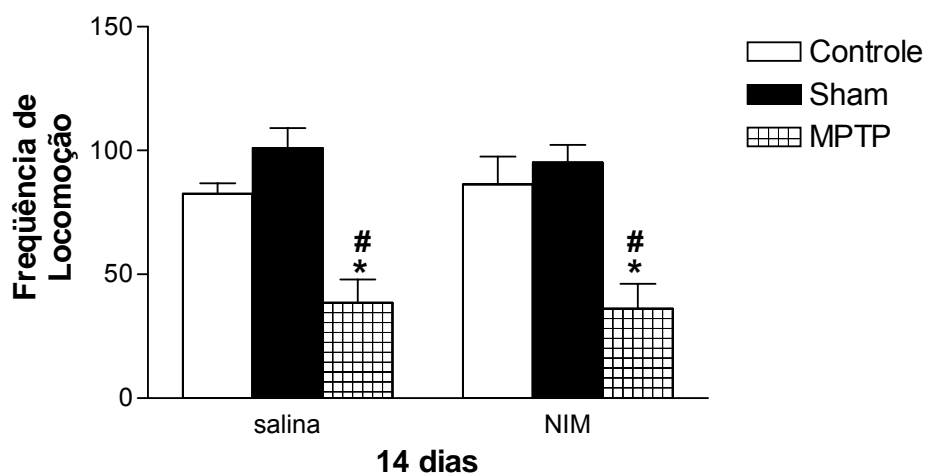


Figura 31. Avaliação da frequência de locomoção dos ratos tratados prolongadamente com salina (1ml/Kg) ou NIM (3mg/Kg), 14 dias após a infusão de MPTP (n=10). Dados analisados através de ANOVA seguido do teste de Tukey. Dados representam a média±desvio padrão. * $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo controle. # $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo Sham.

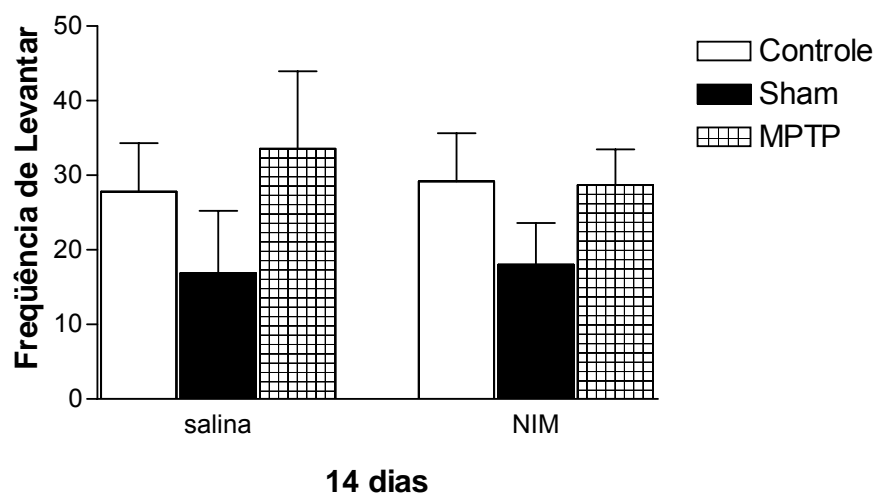


Figura 32. Avaliação da frequência de levantar dos ratos tratados prolongadamente com salina (1ml/Kg) ou NIM (3mg/Kg), 14 dias após a infusão de MPTP (n=10). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão.

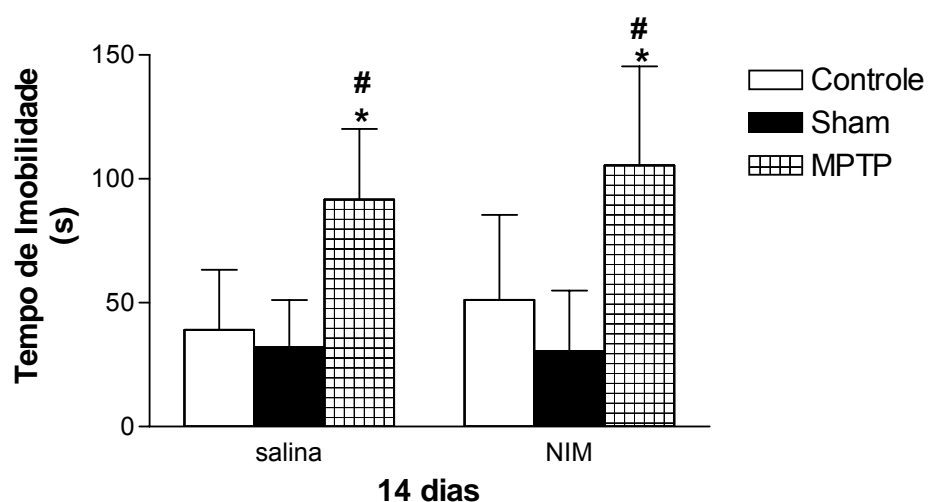


Figura 33. Avaliação do tempo de imobilidade dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (3mg/Kg), 14 dias após a infusão de MPTP (n=10). Dados analisados através de ANOVA seguido do teste de Tukey. Dados representam a média±desvio padrão. * $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo controle. # $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo Sham.

4.5.4 Resultados – 21 dias

Na observação do parâmetro latência e frequência de locomoção, não foram verificadas diferenças estatísticas entre os grupos tratados (Figuras 34, 35).

Com relação à frequência de levantar, foi observado um aumento significativo dos animais do grupo MPTP+salina em comparação aos grupos controle+salina e sham+salina (Figura 36). No entanto, não foi observada diferença estatística dos ratos do grupo MPTP+NIM em relação aos ratos dos grupos controle+NIM e sham+NIM (Figura 36).

Na duração do tempo de imobilidade, observou-se aumento significativo deste parâmetro quando os animais do grupo MPTP+salina foram comparados aos animais dos grupos controle+salina e Sham+salina (Tabela 9). No entanto, não houve diferença significativa entre os ratos dos grupos MPTP+salina e MPTP+NIM não foi observada. Também não se observou diferença significativa no tempo de imobilidade entre os animais do grupo MPTP+NIM e os ratos dos grupos controle+NIM e Sham+NIM (Figura 37).

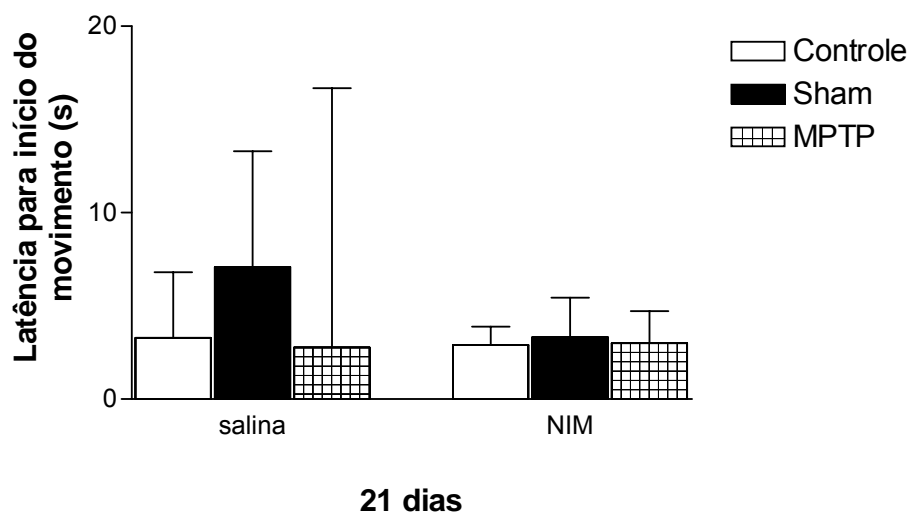


Figura 34. Avaliação da latência dos ratos tratados prolongadamente com salina (1ml/Kg) ou NIM (3mg/Kg), 14 dias após a infusão de MPTP (n=10). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão.

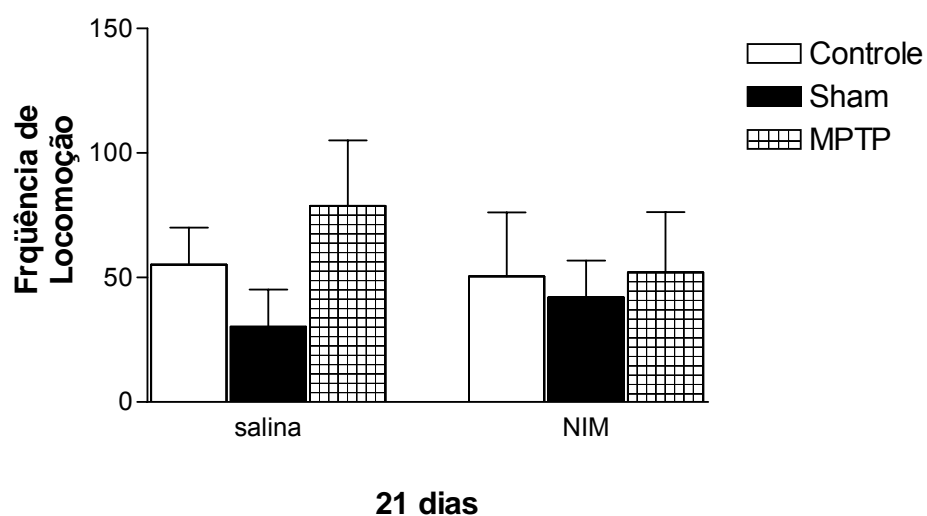


Figura 35. Avaliação da frequência de locomoção dos ratos tratados prolongadamente com salina (1ml/Kg) ou NIM (3mg/Kg), 14 dias após a infusão de MPTP (n=10). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão.

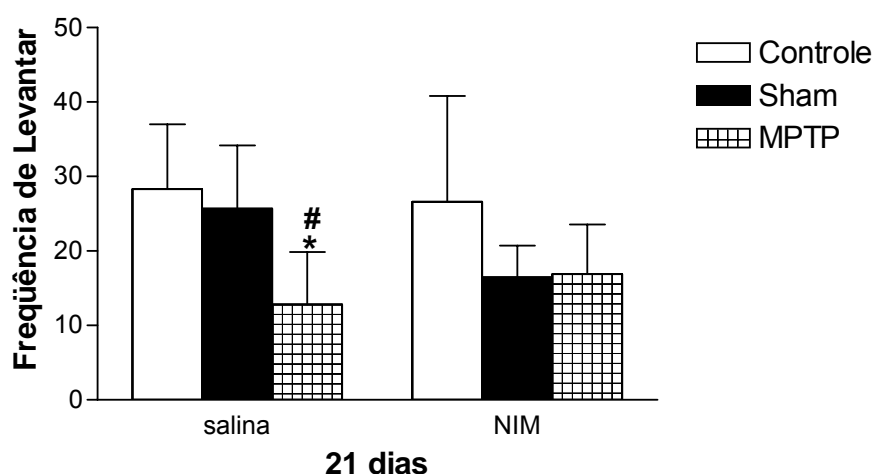


Figura 36. Avaliação da frequência de levantar dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (3mg/Kg), 21 dias após a infusão de MPTP (n=10). Dados analisados através de ANOVA seguida do teste de Tukey. Dados representam a média±desvio padrão. * $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo controle. # $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo Sham.

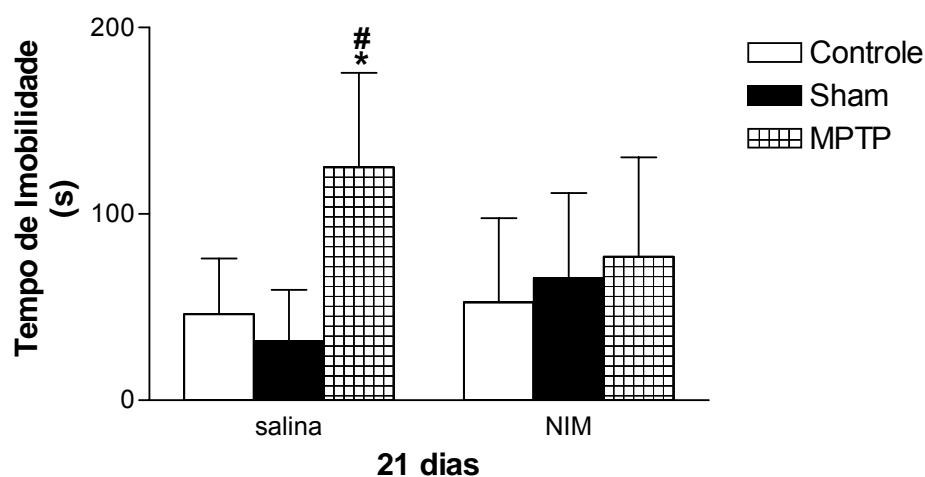


Figura 29. Avaliação do tempo de imobilidade dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou nimesulida (3mg/Kg), 21 dias após a infusão de MPTP (n=10). Dados analisados através de ANOVA seguida do teste de Tukey. Dados representam a média±desvio padrão. * $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo controle. # $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo Sham.

4.5.5 Resultados – 28 dias

No vigésimo oitavo dia após a infusão do MPTP, a avaliação dos animais no teste do campo aberto demonstrou não haver diferença significativa na latência, frequência de locomoção e levantar e tempo de imobilidade entre os grupos tratados (Figuras 38, 39, 40 e 41).

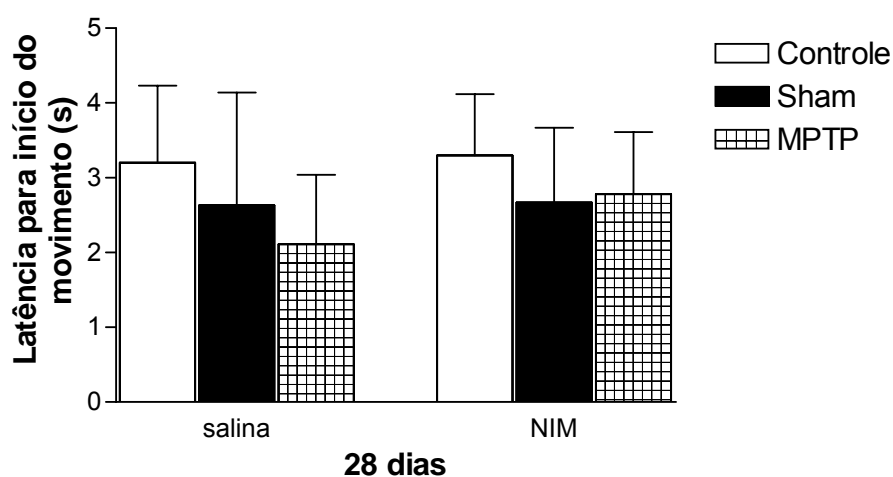


Figura 38. Avaliação da latência dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (3mg/Kg), 28 dias após a infusão de MPTP (n=10). Dados analisados através de ANOVA seguida do teste de Tukey. Dados representam a média \pm desvio padrão.

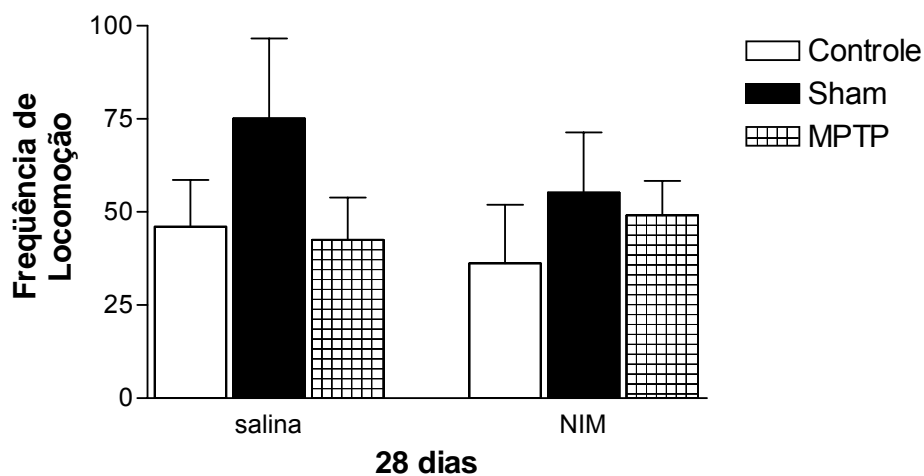


Figura 39. Avaliação da frequência de locomoção dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (3mg/Kg), 28 dias após a infusão de MPTP (n=10). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão.

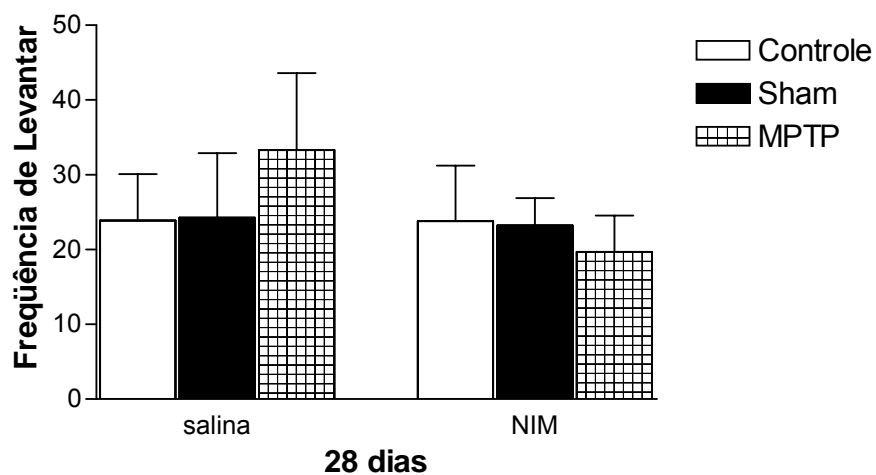


Figura 40. Avaliação da frequência de levantar dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (3mg/Kg), 28 dias após a infusão de MPTP (n=10). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão.

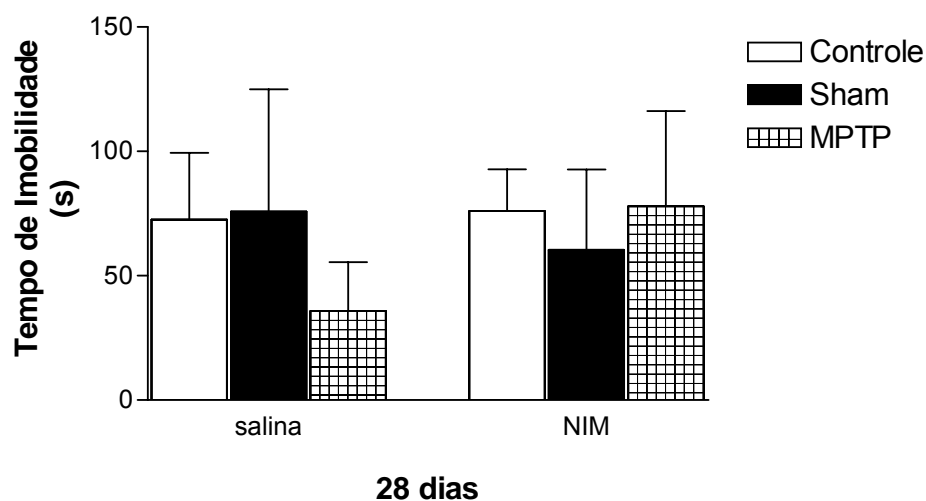


Figura 41. Avaliação do tempo de imobilidade dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (3mg/Kg), 28 dias após a infusão de MPTP (n=10). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão.

4.6. Efeito da Nimesulida (25 e 10mg/Kg) na Atividade Geral de Ratos após Infusão Bilateral de MPTP

Delineamento Experimental

Sessenta ratos machos foram randomicamente divididos em seis grupos (n=10): controle+salina, controle+NIM, Sham+salina, Sham+NIM, MPTP+salina, MPTP+NIM.

Uma hora antes da cirurgia estereotáxica, os animais receberam uma injeção de salina (1ml/Kg) ou NIM (25mg/Kg) por via intraperitoneal. Os animais do grupo MPTP foram operados e receberam infusão intranigral bilateral da neurotoxina, enquanto os ratos do grupo Sham foram operados mas não receberam infusão de MPTP. Os animais do grupo controle não foram operados.

Vinte e quatro horas após a cirurgia, até o décimo quarto dia, os animais receberam administração diária, via intraperitoneal, de salina (1ml/Kg) ou NIM (10mg/Kg). Vinte e quatro horas após a cirurgia estereotáxica, a atividade geral dos animais foi avaliada no campo aberto. Esta avaliação repetiu-se 7 e 14 dias após a cirurgia estereotáxica.

4.6.1 Resultados - 24 horas

Na avaliação do parâmetro latência, os animais do grupo MPTP+salina e MPTP+NIM apresentaram aumento significativo quando comparados aos animais dos grupos controle e Sham (Figura 42).

Com relação à frequência de locomoção dos ratos, verificou-se redução significativa dos animais do grupo MPTP+salina e MPTP+NIM em comparação aos animais dos grupos controle e Sham (Figura 43).

Mais ainda, a frequência de levantar dos animais do grupo MPTP+salina e MPTP+NIM apresentou redução significativa quando comparada aos ratos dos grupos controle e Sham (Figura 44). Porém, não houve diferença significativa deste parâmetro quando os ratos do grupo MPTP+salina foram comparados ao grupo MPTP+NIM.

Com relação ao tempo de imobilidade os ratos do grupo MPTP+salina e MPTP+NIM apresentaram aumento significativo quando comparados aos ratos dos grupos controle e Sham (Figura 45).

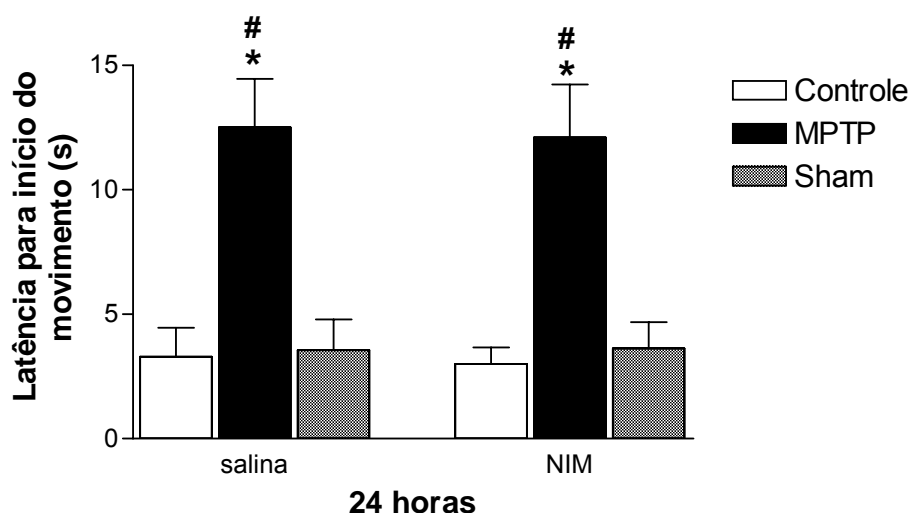


Figura 42. Avaliação da latência de ratos no teste do Campo Aberto, 24 horas após a infusão de MPTP e pré-tratamento com NIM (25mg/Kg) ou salina (1ml/Kg). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média \pm desvio padrão. * $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo controle. # $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo Sham. (n=10/grupo)

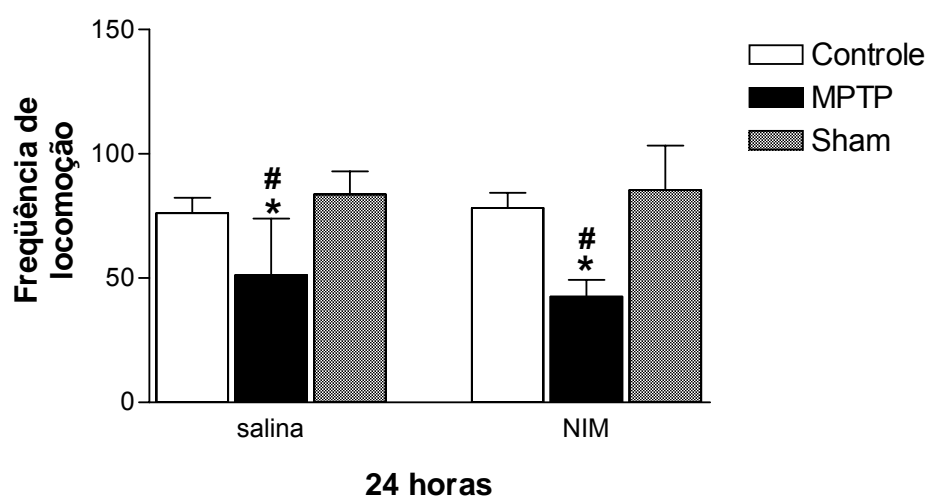


Figura 43. Frequência de locomoção de ratos no teste do campo aberto, 24 horas após a infusão de MPTP e pré-tratamento com NIM (25mg/Kg) ou salina (1ml/Kg). ANOVA seguida do teste de Tukey e representam a média \pm desvio padrão. * $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo controle. # $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo Sham. (n=10/grupo).

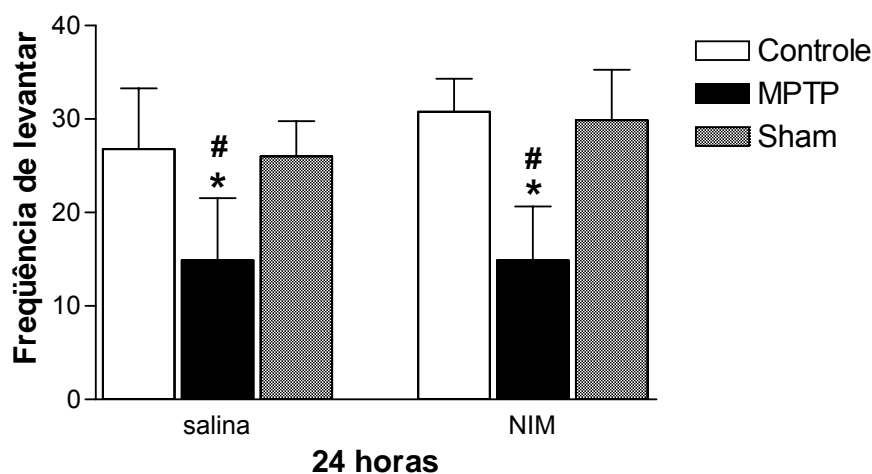


Figura 44. Avaliação da frequência de levantar no teste do campo aberto, 24 horas após infusão de MPTP e pré-tratamento com NIM (25mg/Kg) ou salina (1ml/Kg). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média \pm desvio padrão. * $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo controle. # $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo Sham. (n=10/grupo).

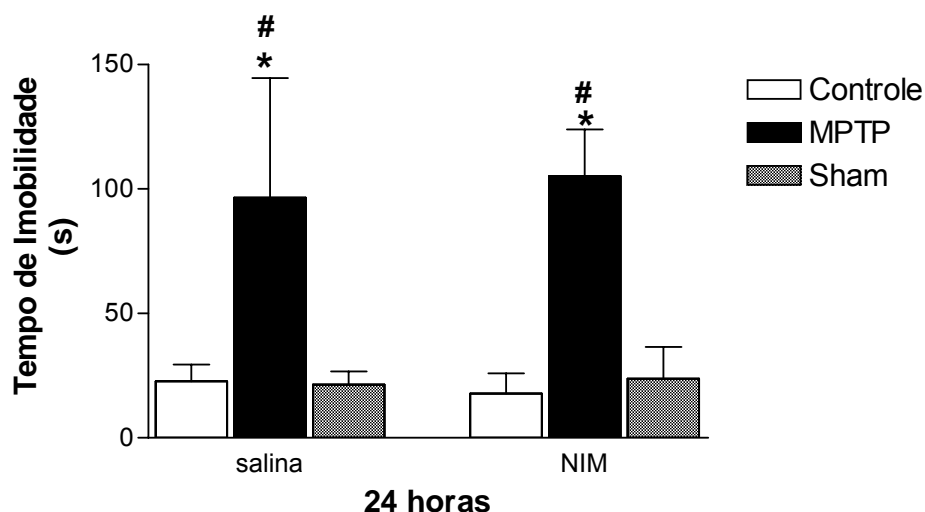


Figura 45. Avaliação do tempo de imobilidade de ratos no teste do Campo Aberto, 24 horas após a infusão de MPTP e pré-tratamento com nimesulida (25mg/Kg) ou salina (1ml/Kg). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média \pm desvio padrão. * $p \leq 0,01$, quando comparados ao grupo controle. # $p \leq 0,01$, quando comparados ao grupo Sham. (n=10/grupo).

4.6.2 Resultados – 7 dias

Na avaliação do parâmetro latência, os animais do grupo MPTP+salina e MPTP+NIM apresentaram aumento significativo quando comparados aos animais dos grupos controle e Sham (Figura 46). No entanto, não houve diferença significativa na latência dos ratos do grupo MPTP+salina em comparação aos ratos do grupo MPTP+nimesulida.

Na avaliação da frequência de locomoção e levantar, os ratos dos grupos MPTP+salina e MPTP+NIM apresentaram redução significativa quando comparados aos animais dos grupos controle e Sham (Figuras 47, 48).

Com relação ao tempo de imobilidade, os ratos dos grupos MPTP+salina e MPTP+NIM apresentaram aumento significativo quando comparados aos ratos dos grupos controle e Sham (Figura 49). Contudo, os ratos do grupo MPTP+salina não apresentaram diferença significativa quando foram comparados aos animais do grupo MPTP+nimesulida.

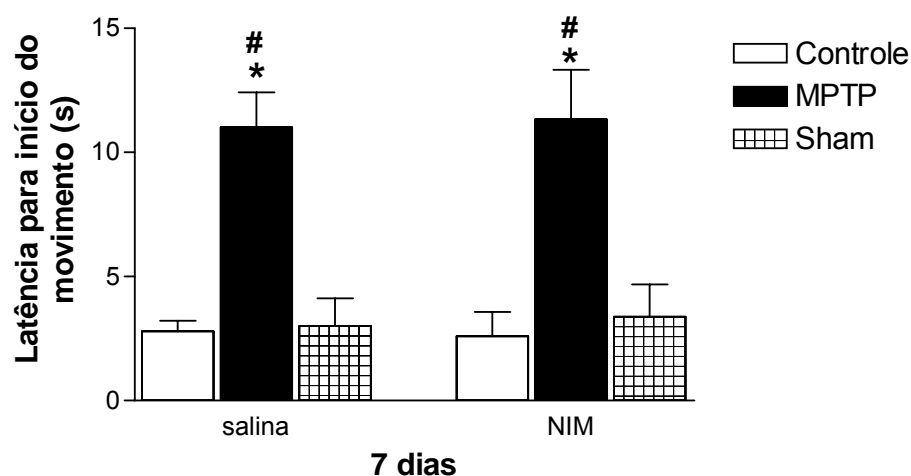


Figura 46. Avaliação da latência dos ratos tratados prolongadamente com salina (1ml/Kg) ou NIM (10mg/Kg), 7 dias após a infusão de MPTP (n=10). Dados analisados através de ANOVA seguida do teste de Tukey. Dados representam a média±desvio padrão. * $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo ao controle. # $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo Sham.

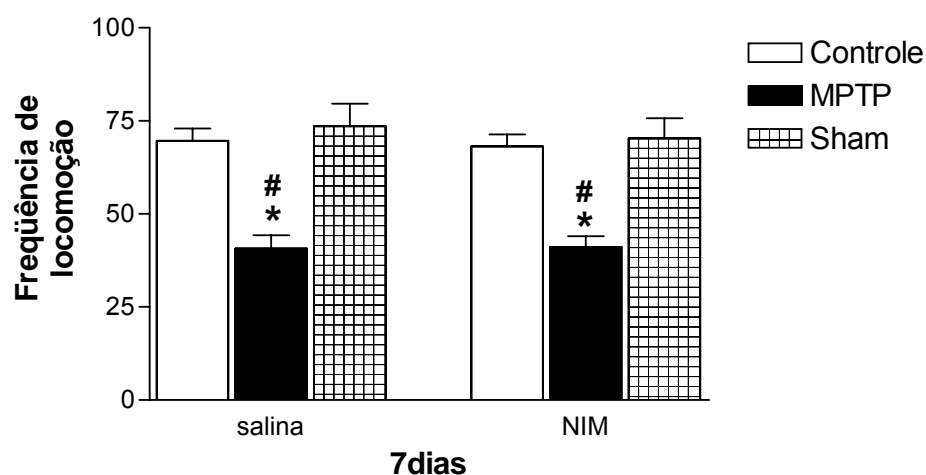


Figura 47. Avaliação da locomoção dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (10mg/Kg), 7 dias após a infusão de MPTP (n=10). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão. * $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo ao controle. # $p \leq 0,01$, em comparação ao grupo Sham.

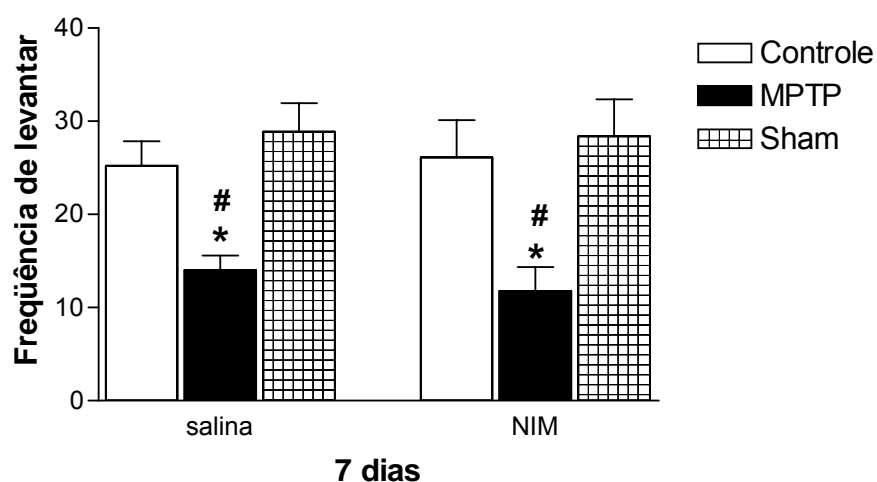


Figura 48. Avaliação da frequência de levantar dos ratos tratados prolongadamente com salina (1ml/Kg) ou NIM (10mg/Kg), 7 dias após a infusão de MPTP (n=10). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão. *p≤0,01, em comparação ao grupo ao controle. #p≤0,01, em comparação ao grupo Sham.

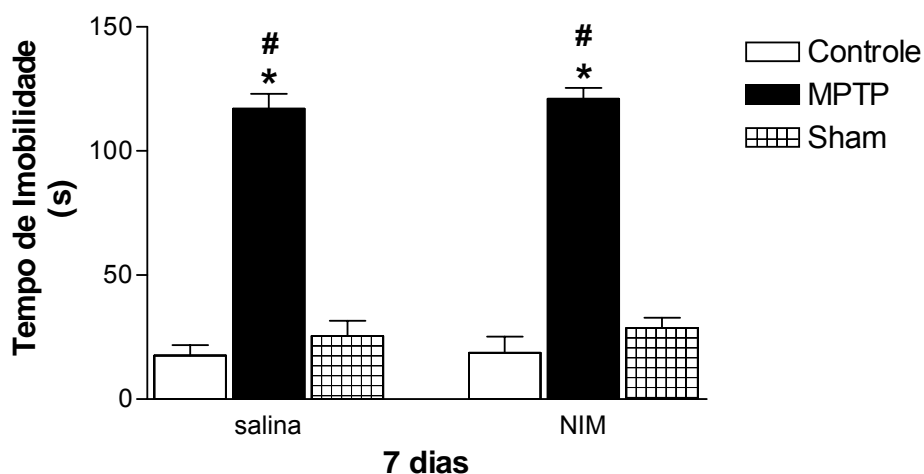


Figura 49. Avaliação do tempo de imobilidade dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (10mg/Kg), 7 dias após a infusão de MPTP (n=10). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão. *p≤0,01, em comparação ao grupo ao controle. #p≤0,01, em comparação ao grupo Sham.

4.6.3 Resultados – 14 dias

Quatorze dias após a infusão de MPTP não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros avaliados no teste do campo aberto: tempo de latência, frequência de locomoção e levantar e o tempo de imobilidade quando os animais do grupo MPTP+salina e MPTP+NIM foram comparados aos grupos controle e Sham (Figuras 50, 51, 52 e 53).

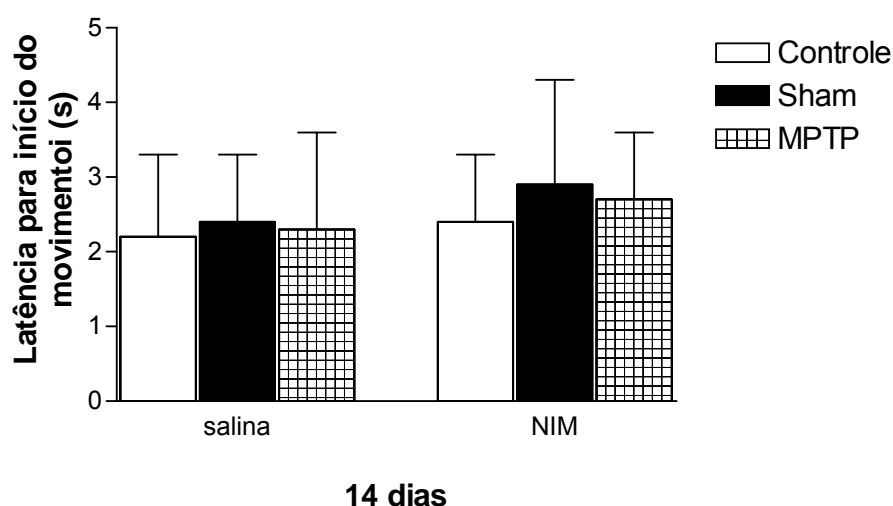


Figura 50. Avaliação da latência dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (10mg/Kg), 14 dias após a infusão de MPTP (n=10/grupo). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão.

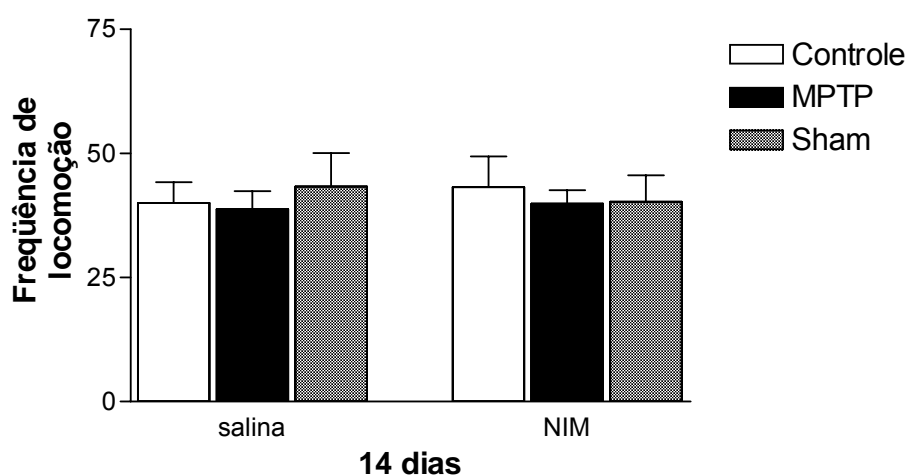


Figura 51. Avaliação da frequência de locomoção dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (10mg/Kg), 14 dias após a infusão de MPTP (n=10/grupo). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão.

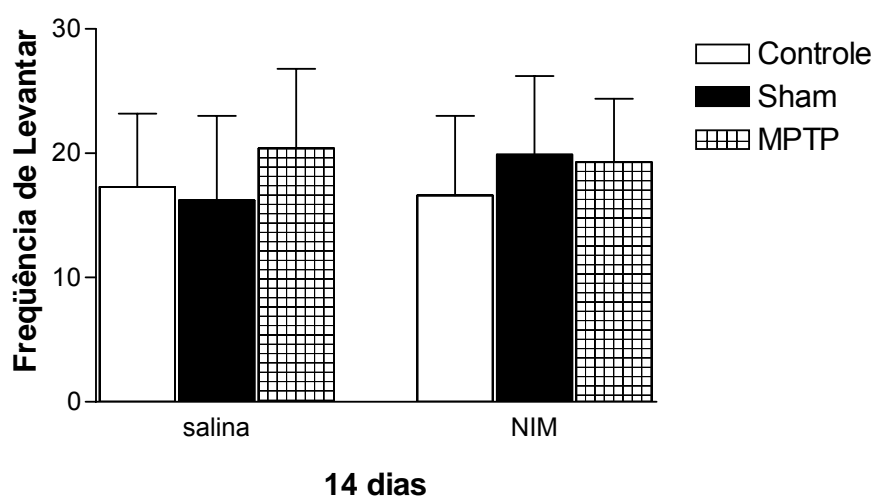


Figura 52. Avaliação da frequência de levantar dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (10mg/Kg), 14 dias após a infusão de MPTP (n=10/grupo). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão.

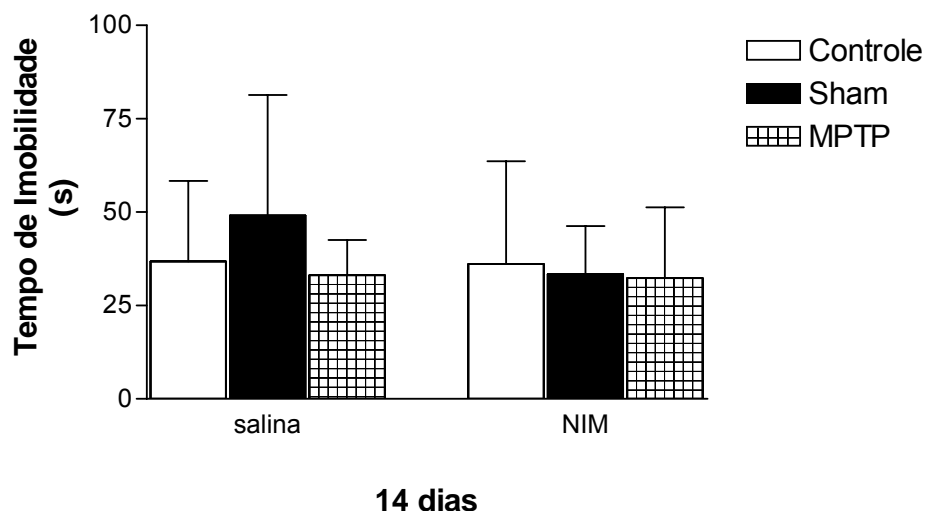


Figura 53. Avaliação do tempo de imobilidade dos ratos tratados com salina (1ml/Kg) ou NIM (10mg/Kg), 14 dias após a infusão de MPTP (n=10/grupo). ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média±desvio padrão.

4.7. Efeito da Nimesulida (25mg/Kg) na Natação Forçada Versão Modificada após Infusão Bilateral de MPTP

Delineamento Experimental

Sessenta ratos machos foram randomicamente divididos em seis grupos (n=10): controle+salina, controle+NIM, Sham+salina, Sham+NIM, MPTP+salina, MPTP+NIM.

Uma hora antes da cirurgia estereotáxica, os animais receberam uma injeção de salina (1ml/Kg) ou NIM (25mg/Kg) por via intraperitoneal. Os animais do grupo MPTP foram operados e receberam infusão intranigral bilateral da

neurotoxina, enquanto os ratos do grupo Sham foram operados mas não receberam infusão de MPTP. Os animais do grupo controle não foram operados.

Vinte e quatro horas após a cirurgia, os animais foram treinados por 15 minutos. Vinte e quatro horas após o treino, os ratos foram testados por 5 minutos e os parâmetros avaliados foram tempo de escalada (s), tempo de natação (s) e tempo de imobilidade (s).

Resultados

Quanto ao tempo de escalada, os resultados indicaram redução significativa deste parâmetro nos animais dos grupos MPTP+salina e MPTP+NIM, em comparação aos ratos dos grupos controles (Figura 54).

Em relação ao tempo de natação, os animais dos grupos MPTP+salina e MPTP+NIM exibiram uma redução significativa quando comparados aos animais dos grupos controles (Figura 55).

Quanto ao tempo de imobilidade, observou-se que os animais dos grupos MPTP+salina e MPTP+NIM demonstraram um aumento deste parâmetro em relação aos ratos dos grupos controles (Figura 56).

Entretanto, não houve diferença estatística entre os ratos dos grupos MPTP+salina e MPTP+NIM nos parâmetros avaliados no teste da natação forçada versão modificada (Figuras 54, 55 e 56).

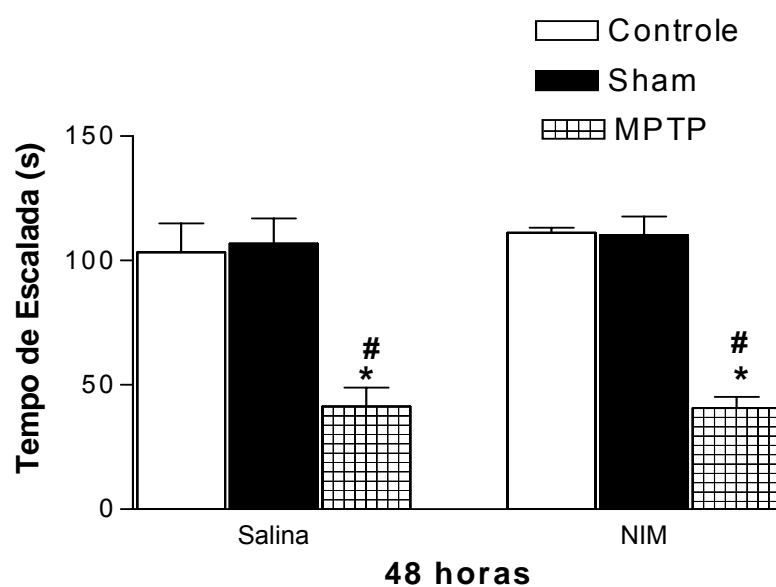


Figura 54. Efeitos do pré-tratamento com salina (1ml/Kg) ou NIM (25mg/Kg) em ratos lesados com MPTP sobre o tempo de escalada no teste da natação forçada versão modificada. Dados analisados através de ANOVA seguida do teste de Tukey. Dados representam a média±S.D. * $p \leq 0,05$, em comparação ao grupo ao controle. # $p \leq 0,05$, em comparação ao grupo Sham.

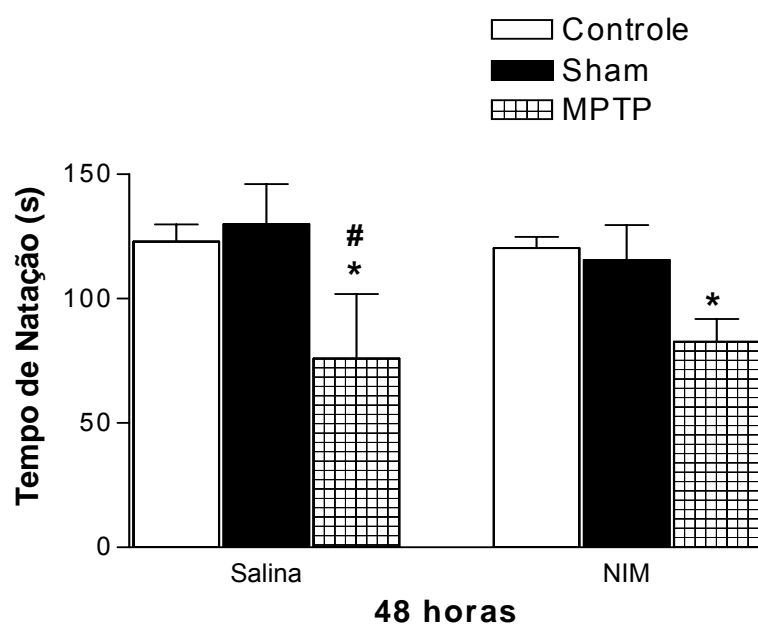


Figura 55. Efeitos do pré-tratamento com salina (1ml/Kg) ou NIM (25mg/Kg) em ratos lesados com MPTP sobre o tempo de natação no teste da natação forçada versão modificada. ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média \pm S.D. * $p\leq 0,05$, em comparação ao grupo ao controle. # $p\leq 0,05$, em comparação ao grupo Sham.

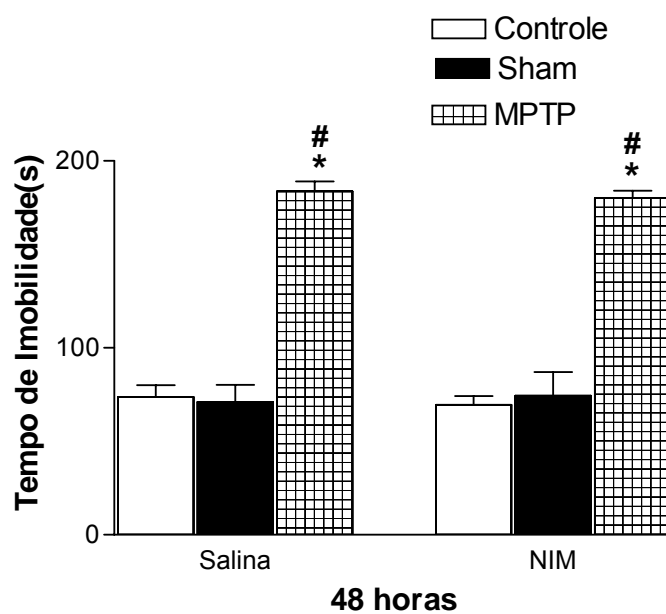


Figura 56. Efeitos do pré-tratamento com salina (1ml/Kg) ou NIM (25mg/Kg) em ratos lesados com MPTP sobre o tempo de imobilidade no teste da natação forçada versão modificada. ANOVA seguida do teste de Tukey e os dados representam a média \pm S.D. * $p\leq 0,05$, em comparação ao grupo ao controle. # $p\leq 0,05$, em comparação ao grupo Sham.

5. DISCUSSÃO

Nos modelos animais de parkinsonismo investigados no presente estudo, verificamos que o modelo da reserpina, bem como o modelo do MPTP, provocaram redução da atividade motora nos ratos observados no teste do campo aberto. No teste da natação forçada versão modificada, observamos que os animais reserpinizados demonstraram redução do tempo de natação e aumento do tempo de imobilidade, enquanto que no modelo do MPTP, os animais lesados com esta neurotoxina exibiram redução dos tempos de escalada e natação e aumento do tempo de imobilidade. Com relação aos efeitos dos antiinflamatórios, observamos que a administração de dexametasona, indometacina, nimesulida ou parecoxib reduziu a hipoatividade induzida pela reserpina no teste do campo aberto. Entretanto, no modelo do MPTP, a administração de nimesulida não foi capaz de reverter a redução da atividade geral dos ratos provocada por esta neurotoxina. No teste da natação forçada versão modificada, apenas a nimesulida e o parecoxib aumentaram o tempo de natação e reduziram o tempo e imobilidade dos animais reserpinizados, enquanto que no modelo do MPTP, a administração de nimesulida não foi capaz de reverter as alterações observadas nos animais lesados.

A participação da inflamação na etiologia da doença de Parkinson tem sido confirmada por diversos autores. Tem sido reportado que a expressão de COX-2 é induzida especificamente em neurônios dopaminérgicos presentes na SNc. Este fato já foi verificado em mesencéfalos humanos especialmente no modelo animal induzido por MPTP, durante a destruição da via nigroestriatal (TEISMANN *et al.*, 2003). Outras evidências da importância do papel da COX-2 na mediação da neurodegeneração dopaminérgica nigroestriatal são referentes ao uso de inibidores da COX-2, que por sua vez apresentam efeito neuroprotetor (AUBIN *et al.*, 1998; NAKAYAMA *et al.*, 1995; SCALI *et al.*, 2000; KURKOWSKA-JASTRZEBSKA *et al.*, 2002). A ativação microglial também pode ser desencadeada por processos patogênicos, por antígenos provenientes de agentes infecciosos (como o LPS), príons, ou por uma combinação complexa de moléculas

incluindo ATP, interleucinas (IL)-1 β , IL-6 e IL-10 (HANISH & GUERRA, 2002; NAKAMURA, 2002). Nesta linha, há um aumento na microglia reativa na SNc e estriado de pacientes portadores da doença de Parkinson idiopática (McGEER & McGEER, 1998; MIRZA *et al.*, 2002). Além disso, a área do encéfalo que engloba a SN (mesencéfalo) abriga a maior densidade da microglia no encéfalo (KIM *et al.*, 2000).

De acordo com CHEN *et al.* (2003), o uso prolongado de antiinflamatórios não esteroidais em humanos foi capaz de reduzir em aproximadamente 45% o risco de desenvolvimento da Doença de Parkinson e este resultado foi corroborado por outros antiinflamatórios utilizados em modelos animais de parkinsonismo. De fato, FENG *et al.* (2002) demonstraram que a depleção da isoforma COX-2 resultou na neuroproteção contra administração de MPTP, bem como TEISSMANN *et al.* (2003) demonstraram que esta neuroproteção contra o MPTP estaria associada não somente à redução da ativação da micróglia, mas também ao bloqueio da oxidação dopaminérgica mediada pela COX-2.

É bem estabelecido que a COX-1 é constitutivamente expressa em praticamente todos os tecidos, incluindo o encéfalo, em neurônios e astrócitos (HEWETT *et al.*, 2000). A COX-2, entretanto, é uma proteína de caráter indutível, sendo constitutivamente expressa em apenas alguns poucos tecidos, incluindo particularmente o encéfalo em diferentes regiões como o córtex, amígdala, hipocampo e corno dorsal da medula (YAMAGATA *et al.*, 1993; BREDER *et al.*, 1995). Além disso, a COX-2 apresentou aumento da expressão 1 – 8 h após processos convulsivos, traumas, hemorragia intracerebral e doenças neurodegenerativas (YAMAGATA *et al.*, 1993; NOGAWA *et al.*, 1998; KNOTT *et al.*, 2000; KIM *et al.*, 2001; GONG *et al.*, 2001).

De acordo com nossos resultados (**Figuras 8 e 12**), no modelo de parkinsonismo induzido pela reserpina (1mg/Kg) em ratos, observamos que a nimesulida (3 e 10mg/Kg) foi capaz de produzir uma reversão dose-dependente na hipolocomoção provocada pelo alcalóide. Mais ainda, utilizando o mesmo modelo animal, avaliamos os efeitos da nimesulida e de outros antiinflamatórios nas alterações motoras e comportamentais induzidas pela reserpina (1mg/Kg). Nas

Figuras 15, 16, 17 e 18 observamos que as drogas antiinflamatórias dexametasona (2mg/Kg), indometacina (10mg/Kg), nimesulida (10mg/Kg) e parecoxib (5mg/Kg) foram capazes de reverter a redução da atividade motora (aumento da latência para início do movimento, redução das frequências de locomoção e levantar e aumento do tempo de imobilidade) provocada pela reserpina. Deste modo, é possível inferir que estes antiinflamatórios causaram reversão do prejuízo motor causado pela reserpina, sem, no entanto, apresentarem efeito *per se*. De fato, não houve diferença significativa entre os ratos dos grupos veículo+antiinflamatórios em comparação aos animais do grupo veículo+salina no teste do campo aberto. É difícil imaginar que somente a inibição da COX-2 seja o único mecanismo envolvido nestes efeitos. De fato, ROSS *et al.* (2002) demonstraram que a inibição não seletiva da COX provocada pela indometacina e piroxicam foi capaz de reduzir a catalepsia induzida por haloperidol (1mg/Kg) e reduzir a estimulação locomotora induzida pela anfetamina. Deste modo, estes autores sugerem que a inibição não seletiva da ciclooxigenase poderia exercer um efeito modulatório sobre a liberação dopaminérgica, e, que outros sistemas de neurotransmissores poderiam estar envolvidos.

Não encontramos na literatura estudos que correlacionam a COX-2 e função motora. Sabe-se, como discutido anteriormente que a inibição desta enzima está associada à redução da neurotoxicidade induzida por drogas (MPTP, reserpina, 6-OHDA, rotenona, metanfetamina, etc) e que este efeito está provavelmente ligado a inibição da atividade peroxidase da COX-2, a qual pode contribuir com a formação de ROS e dopamina-quinonas (Thomas e Khun, 2005). Por outro lado, verificou-se que a dopamina modula a expressão da COX-2 renal por modificar a reabsorção no túbulo proximal (Zhang *et al.*, 2005). Estes fatos, sugerem que este assunto precisa ser melhor investigado.

Com relação ao modelo da reserpina validado anteriormente em outros estudos do nosso grupo (CASTILHO *et al.*, 2005; SKALISZ *et al.*, 2002; ALVES *et al.*; 2001, Dutra *et al.*, 2001) e da literatura (MENZAGHI *et al.*, 1997; COLPAERT, 1987), nossos resultados mostram que este alcalóide provocou uma redução da atividade geral dos animais avaliados no teste do campo aberto. Estas alterações

estão associadas aos sintomas motores cardinais presentes na doença de Parkinson, os quais incluem bradicinesia, tremor em repouso e instabilidade postural.

Mais ainda, foi observado que este modelo apresentou uma validade de face com a depressão associada à doença de Parkinson (SKALISZ *et al.*, 2002). De fato, este alcalóide produziu uma redução no consumo de sacarose 2% em camundongos (SKALISZ *et al.*, 2002), além do aumento do tremor em camundongos (DUTRA *et al.*, 2001). A reserpina é conhecida por causar sintomas depressivos em humanos (KANDEL, 1991), porém segundo alguns autores, este modelo seria ineficaz no teste da natação forçada em ratos (YATES *et al.*, 1991; PORSOLT *et al.*, 1977). Entretanto, em nosso experimento, observamos que a reserpina causou redução no tempo de natação e aumento do tempo de imobilidade, sinais associados à depleção nos níveis de serotonina.

A depressão é o transtorno neuropsiquiátrico mais comum na doença de Parkinson (CHUNG *et al.*, 2003; MCDONALD *et al.*, 2003; ROJO *et al.*, 2003). Segundo CUMMINGS (1992), aproximadamente 40% dos pacientes parkinsonianos apresentam sintomas depressivos. Os sintomas depressivos nestes pacientes surgem antes do aparecimento dos primeiros sintomas motores (SANTAMARIA *et al.*, 1986). Segundo HOOGENDIJK *et al.* (1998), a ativação de neurônios que liberam o hormônio de liberação de corticotrofina no núcleo paraventricular hipotalâmico, observada na depressão idiopática, não ocorre na depressão associada à doença de Parkinson. Estes dados indicam que a depressão nestes pacientes possui uma etiologia diferente da depressão idiopática.

Alguns estudos revelaram que os sintomas depressivos observados em pacientes parkinsonianos não são idênticos aos relatados em pacientes com depressão maior. Os pacientes parkinsonianos parecem apresentar mais disforia, tristeza, irritabilidade, pessimismo, e idéias suicidas. A depressão na doença de Parkinson pode ser distinguida de outros transtornos depressivos por apresentar estados de ansiedade mais severos e menor sensação de culpa (CUMMINGS, 1992; CHUNG *et al.*, 2003). A comorbidade entre ansiedade e depressão foi

descrita em 67% dos casos avaliados, enquanto a comorbidade entre ansiedade e depressão em parkinsonianos ocorre em 97% dos pacientes (BURN, 2002; KANNER e BARRY, 2003).

Embora alguns autores descrevem que flutuações no humor na doença de Parkinson são resultados de várias flutuações motoras (HARDIE *et al.*, 1984; CANTELLO *et al.*, 1986; NISSENBAUM *et al.*, 1987; FRIEDENBERG e CUMMINGS, 1989), existem evidências de que alterações motoras e no humor podem ser fenômenos separados. Em um estudo piloto, RICHARD *et al.* (2001) avaliaram 16 pacientes parkinsonianos com flutuações motoras, e mostraram que mudanças no humor e na ansiedade são freqüentes, entretanto, não houve correlação entre flutuações no humor e alterações motoras nestes pacientes. Um estudo utilizando a infusão intravenosa de levodopa em parkinsonianos confirmou a dissociação entre os sintomas motores e não motores da doença por demonstrar que as alterações no humor precederam as motoras (MARICLE *et al.*, 1995). Em adição, os tratamentos cirúrgicos para a doença de Parkinson como lesões no globo pálido interno têm melhorado as alterações motoras da doença sem influenciar nos sintomas de humor (GREEN *et al.*, 2002). Todavia, a estimulação da região abaixo do núcleo subtalâmico está associada à melhora do humor deprimido sem efeito sobre a função motora destes pacientes (BEJJANI *et al.*, 1999; BERNEY *et al.*, 2002).

Muitos estudos sugerem que alterações na neurotransmissão dopaminérgica (CANTELLO *et al.*, 1989), noradrenérgica (CHAN-PALAY e ASAN, 1989) e serotoninérgica (MAYEUX *et al.*, 1984) são as bases biológicas dos sintomas depressivos associados à doença de Parkinson. Estes dados explicam a preocupação do nosso grupo em estudar este distúrbio de humor na doença de Parkinson, como também seus possíveis tratamentos.

Neste sentido, o teste da natação forçada versão modificada está freqüentemente associado à alteração do sistema monoaminérgico. De acordo com DETKE *et al.* (1995), os inibidores da recaptação de noradrenalina aumentaram o tempo de escalada, sem alterar o tempo de natação, e os inibidores da recaptação de serotonina aumentaram o tempo de natação sem

alterar o tempo de escalada. Além disso, HEMBY *et al.* (1997) também descreveram que os inibidores seletivos da recaptação de dopamina aumentaram o comportamento de escalada neste teste. O tempo de escalada mensurado no teste da natação forçada versão modificada está associado aos níveis de noradrenalina e dopamina; o tempo de natação está associado aos níveis de serotonina, enquanto o tempo de imobilidade está relacionado aos níveis de dopamina, noradrenalina e serotonina.

Com relação aos nossos resultados no teste de natação forçada, nas **Figuras 20 e 21** verificamos que os antiinflamatórios não-esteroidais seletivos para a isoforma COX-2, a nimesulida (10mg/Kg) e o parecoxib (5mg/Kg), foram capazes de reverter os sinais depressivos induzidos pela reserpina (1mg/Kg), enquanto a dexametasona (2mg/Kg) e a indometacina (10mg/Kg) não alteraram o tempo de imobilidade. Não houve diferença significativa entre os animais dos grupos veículos+antiinflamatórios quando comparados aos ratos do grupo veículo+salina. Como o tempo de escalada (**Figura 19**) não foi alterado por estes antiinflamatórios, podemos sugerir que os efeitos da nimesulida e do parecoxib não estão envolvidos com o sistema noradrenérgico e dopaminérgico. Nossos resultados corroboram o estudo de JAIN *et al.*, (2001) os quais mostraram que a nimesulida foi capaz de reverter a imobilidade no teste da natação forçada induzida por reserpina em camundongos e reverteu o comportamento do desamparo aprendido induzido por LPS. Assim, a administração destas drogas poderia estar influenciando o sistema serotoninérgico, aumentando o tempo de natação reduzido pela reserpina. Outros estudos são necessários para confirmar esta premissa.

A nimesulida é uma droga antiinflamatória não-esteroidal não-carboxílica, a qual apresenta 5 a 20 vezes maior potência para a isoforma COX-2 (COX-2/COX-1=0.19). Além da atividade sobre a COX-2, a nimesulida demonstrou inibir a produção de radicais livres e a produção de células inflamatórias. Também foi reportado que a nimesulida inibiu a liberação de histamina dos mastócitos e basófilos, e também promoveu a inibição do fator de ativação plaquetária (PAF) (KULKARNI, 2002), bem como a redução da expressão do gene da COX-2

induzido por interleucina-1 β em fibroblastos sinoviais humanos (FAHMI *et al.*, 2001). Além destas propriedades, a nimesulida reduziu em 50% a elevação da interleucina-1 β induzida pelo ácido quisquálico no interior do núcleo basal de ratos, atenuando fortemente a reação da micróglia, reduzindo o número de células positivas para óxido nítrico sintase indutível e abolindo a formação de prostaglandina-E₂ (SCALI *et al.*, 2000). Entretanto, em um modelo animal da doença de Alzheimer em camundongos, a administração prolongada de nimesulida não produziu efeito sobre a formação de placas senis e sobre a atividade do fator nuclear kappa B (NF- κ B) (SUNG *et al.*, 2004). O tratamento com nimesulida em 40 pacientes portadores da doença de Alzheimer também não mostrou melhora significativa nos escores de cognição, comportamento e atividades diárias (AISEN *et al.*, 2002).

O parecoxib é uma pró-droga potente e seletivo inibidor da COX-2, e após administração, é biotransformado em valdecoxib, o seu metabólito ativo. Estudos têm demonstrado que o parecoxib, administrado parenteralmente, possui potente ação analgésica, antiinflamatória e antipirética (PADI *et al.*, 2004), sendo utilizado principalmente como tratamento pós-operatório (DESJARDINS *et al.*, 2001).

Quanto à dexametasona, na **Figura 21** observamos que este antiinflamatório não foi capaz de reverter o aumento do tempo de imobilidade provocado pela reserpina, provavelmente devido ao nível de cortisona liberado pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Assim, em situações de estresse e depressão, os níveis de cortisona estão elevados em roedores. Uma provável explicação para entender este resultado é que a administração de dexametasona aumentou os níveis de cortisona, aumentando os sinais depressivos, observados pela redução do tempo de natação e aumento do tempo de imobilidade. Em adição, APPELHOF *et al.* (2005) mostraram que a administração prolongada de dexametasona e a elevação máxima dos níveis de cortisol pós-tratamento em humanos, foi associada à reincidência da depressão em pacientes em remissão. Outra possível explicação seria que doses de dexametasona seriam capazes de induzir à morte de neurônios hipocampais, aumentando a depleção monoaminérgica.

A dexametasona é um potente antiinflamatório esteroidal, a qual atua antagonizando a proteína ativadora-1 (AP-1) e o fator NF- κ B, que são elementos promotores da transcrição de moléculas inflamatórias (UNLAP & JOPE, 1995a; UNLAP & JOPE, 1995b). Os glicocorticóides inibem a produção de duas enzimas envolvidas na síntese de prostaglandinas: a COX-2 e a fosfolipase A_2 . O tratamento com dexametasona também reduziu a produção das citocinas pró-inflamatórias, incluindo a IL-1 β e TNF- α . No cérebro, a dexametasona interferiu na ativação da micróglia, inibindo a expressão da classe MHC II, e diminuindo a expressão de COX-2 e iNOS (MINGHETTI *et al.*, 1999). Em adição, este antiinflamatório também inibiu a proliferação da micróglia *in vitro* (TANAKA *et al.*, 1997). No entanto, um estudo clínico utilizando prednisona, um outro agente antiinflamatório esteroidal, não demonstrou efeitos neuroprotetores no tratamento da doença de Alzheimer (AISEN *et al.*, 2000), seja pela baixa dose administrada nos pacientes ou pelos vários efeitos adversos decorrentes do tratamento. De modo relevante para o nosso estudo, WROBEL *et al.* (2005) demonstraram que a administração de dexametasona foi capaz de reduzir a estimulação locomotora induzida pela anfetamina e bromocriptina em camundongos. Segundo estes autores, este efeito seria devido à ação da dexametasona sobre os receptores glicocorticóides no sistema límbico. Considerando, nossos resultados do teste de natação forçada, os presentes dados são contraditórios aos efeitos observados por estes autores. Novamente, este fato é indicativo de que os efeitos dos antiinflamatórios na função motora devem ser melhor investigados.

Ainda no teste da natação forçada, a indometacina não foi capaz de aumentar o tempo de natação e de reduzir o tempo de imobilidade induzidos pela reserpina. A indometacina é um antiinflamatório não esteroidal não seletivo, o qual atua ao inibir ambas isoformas da COX. Estudos têm avaliado os efeitos da indometacina como possível agente terapêutico em doenças neurodegenerativas. De fato, KURKOWSKA-JASTRZEBSKA *et al.* (2002) mostraram que a administração de indometacina promoveu neuroproteção contra a toxicidade induzida pelo MPTP em camundongos. Em adição, foi verificado que a administração de indometacina provocou a neurogênese em um modelo de

isquemia focal em ratos (HOEHN *et al.*, 2005). YAO *et al.* (2004) observaram que a administração de indometacina foi capaz de reduzir o estresse oxidativo, a ativação da micróglia e a redução de placas beta-amilóides no neocórtex e hipocampo em um modelo transgênico da doença de Alzheimer. Entretanto, BLAIS *et al.* (2005) verificaram que a inibição da COX por antiinflamatórios não seletivos possui propriedades pró-inflamatórias, devido à capacidade de alteração dos níveis de glicocorticóides plasmáticos, afetando a resposta imune inata após administração de LPS em camundongos. O mesmo estudo de KURKOWSKA-JASTRZEBSKA *et al.* (2002) demonstraram que a administração de indometacina foi capaz de reduzir os níveis de dopamina estriatais em camundongos. Esta redução dos níveis de dopamina poderia explicar a ausência de redução do tempo de imobilidade no teste da natação forçada, já que este parâmetro está relacionado ao sistema monoaminérgico.

Finalmente, neste teste, (**Figura 21**) verificamos que na administração de RES+IMI, este antidepressivo foi capaz de reduzir o tempo de imobilidade observado nos animais reserpinizados. A imipramina foi utilizada como controle positivo, porém, a administração *per se* da imipramina não foi capaz de aumentar o tempo de natação dos animais avaliados. Estes resultados não confirmam o efeito antidepressivo clássico da IMI no teste de natação forçada (BOURIN *et al.*, 1981; BORSINI e MELI, 1988) e sugerem que a IMI (25 mg/kg) foi capaz de reverter o efeito da RES (1mg/kg) neste teste.

No modelo de parkinsonismo induzido por MPTP em ratos (**Figura 23**) verificamos que a infusão intranigral desta neurotoxina provocou redução da atividade geral dos animais avaliados no teste do campo aberto, sendo que a hipolocomoção foi observada até o décimo quarto dia após a cirurgia estereotáxica. Esta hipoatividade é corroborada por outros resultados prévios de nosso grupo (PERRY *et al.*, 2005; FERRO *et al.*, 2005; PERRY *et al.*, 2004; MIYOSHI *et al.*, 2000; da CUNHA *et al.*, 2001; GEVAERD *et al.*, 2001) e por outros dados da literatura (KUROSAKI *et al.*, 2004; ROUSSELET *et al.*, 2003; JENNER, 2003; SEDELIS *et al.*, 2001). Assim, a infusão de MPTP pode ser considerada um

modelo adequado para mimetizar as alterações motoras associadas à doença de Parkinson.

O parâmetro latência para início do movimento apresentou-se aumentado nos ratos dos grupos MPTP, de modo similar à bradicinesia presente nos pacientes portadores da doença de Parkinson, bem como a redução da frequência de locomoção e aumento do tempo de imobilidade em ratos, relacionados à redução dos movimentos dos pacientes parkinsonianos. Sete dias após a cirurgia, os animais do grupo MPTP ainda mostravam redução na frequência de locomoção (**Figura 27**), que foi também observado 14 dias após a cirurgia (**Figura 31**).

A recuperação da locomoção após o décimo quarto dia parece ser devida à regeneração dos neurônios dopaminérgicos ou à formação de novos neurônios (GASPAR *et al.*, 1993) ou pela ocorrência de mecanismos compensatórios, como a neuroplasticidade. A outra explicação para a regeneração da via nigroestriatal seria a depleção dopaminérgica leve, associada à lesão incompleta produzida pelo MPTP (PERRY *et al.*, 2004). GEVAERD *et al.* (2001) demonstraram que a infusão intranigral bilateral de MPTP foi capaz de produzir uma redução de 40% dos níveis de dopamina estriatal, bem como uma redução de 57% no número de neurônios imunorreativos à tirosina-hidroxilase na substância negra.

Entretanto, em grandes primatas como babuínos e macacos *rhesus*, a administração de MPTP provocou uma síndrome parkinsoniana persistente. Babuínos que receberam injeções semanais de MPTP (0.4-0.5mg/Kg i.v.) até a idade de 20 meses, exibiram uma síndrome parkinsoniana estável, a qual foi observada mesmo 16 meses após a última dose de MPTP (HANTRAYE *et al.*, 1993). Em outro experimento, SMITH *et al.* (1993) injetaram MPTP (0.4mg/Kg) bilateralmente no interior da artéria cerebral de macacos *rhesus* idosos (acima de 23 meses de idade), e estes animais também desenvolveram uma síndrome parkinsoniana estável, a qual persistiu até 45 dias após a lesão, associado a perda de 95% da atividade motora observada 12 meses após a lesão. Mais ainda, BARCIA *et al.* (2004) demonstraram que a ativação da micróglia na substância parte compacta de macacos parkinsonianos foi observada 1 ano após injeções de MPTP (0.3mg/Kg / i.v., durante dois anos).

Na sequência de nossos experimentos, resolvemos investigar a ação dos antiinflamatórios na neuroinflamação induzida pelo MPTP, utilizando novamente os testes do campo aberto e da natação forçada. Como discutido anteriormente, apenas a nimesulida e o parecoxib foram capazes de reverter as alterações comportamentais induzidas pela reserpina (**Figura 21**), e como o parecoxib já estava sendo utilizado em outros experimentos em nosso grupo, resolvemos então investigar a ação da nimesulida neste modelo animal de parkinsonismo. Em adição, não encontramos na literatura dados relacionados ao estudo da nimesulida no modelo animal do MPTP.

De acordo com nossos resultados, no teste do campo aberto a administração aguda da nimesulida (10mg/Kg) via intraperitoneal 1 hora antes da cirurgia e prolongada da nimesulida (3mg/Kg) durante 28 dias, não foi capaz de proteger, nem tampouco de reverter o prejuízo motor induzido pelo MPTP. No teste do campo aberto 24 horas após a infusão de MPTP e pré-tratamento intraperitoneal de nimesulida (10mg/Kg), nós observamos que os ratos dos grupos MPTP exibiram uma redução da atividade geral, a qual persistiu por 14 dias após a cirurgia, mesmo após tratamento diário com nimesulida (3mg/Kg). Assim, como não houve reversão da hipoatividade dos animais nesta dose do antiinflamatório, o teste da natação forçada não foi realizado.

Uma vez que a dose de nimesulida (10mg/Kg) não reverteu as alterações motoras induzidas pelo MPTP, utilizamos uma dose mais elevada, a fim de verificar um possível efeito dose-dependente. Assim, ratos foram infundidos com MPTP e receberam pré-tratamento com nimesulida (25mg/Kg) e administração diária de nimesulida (10mg/Kg) por 14 dias. Os resultados mostraram que mesmo com o aumento da dose deste antiinflamatório, a nimesulida não foi capaz de prevenir ou reverter a redução das frequências de locomoção e levantar e o aumento dos tempos de latência e imobilidade provocadas por esta neurotoxina. No teste do campo aberto 24 horas após a infusão de MPTP e pré-tratamento intraperitoneal de nimesulida (25mg/Kg), nós também observamos que os ratos dos grupos MPTP exibiram uma redução da atividade geral, a qual persistiu por 7 dias após a cirurgia, mesmo após tratamento diário com nimesulida (10mg/Kg).

Quatorze dias após a infusão do MPTP, os ratos recuperaram a atividade motora em todos parâmetros.

Neste sentido, como a transformação do MPTP em MPP⁺ nas células da glia resultaria em uma ativação da micróglia e neuroinflamação, com conseqüente morte neuronal, nós sugerimos que a nimesulida não foi capaz de prevenir esta ativação da micróglia, não impedindo assim a degeneração dopaminérgica, a qual resultou nas alterações motoras observadas em nossos animais. Deste modo, acreditamos que a ausência de efeitos protetores da nimesulida não está relacionada à dose, mas devido à baixa eficácia deste agente. Talvez este fato possa ser explicado devido a inibição não seletiva da COX-2. Nesta linha, Braga (2005) verificou que o parecoxib foi capaz de reverter tanto o prejuízo motor quanto cognitivo de ratos lesados com MPTP.

Com relação ao teste da natação forçada versão modificada, nós observamos que os animais dos grupos MPTP apresentaram uma redução do tempo de escalada e natação (**Figuras 54 e 55**), associados ao aumento no tempo de imobilidade (**Figura 56**). HAOBAM *et al.* (2005) utilizou este teste para avaliar o prejuízo motor induzido por MPTP em camundongos. Mesmo assim, os camundongos dos grupos MPTP demonstraram um aumento do tempo de imobilidade após administração intraperitoneal de MPTP (10,20 e 30mg/Kg), corroborando nossos resultados. Até o momento não encontramos dados da literatura que mostram o efeito desta neurotoxina neste teste comportamental. Como discutido anteriormente, os sinais depressivos observados no teste da natação forçada são devidos às alterações monoaminérgicas. Nossos dados são corroborados por estudos que demonstram que, além da redução nos níveis de dopamina, do ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC) e ácido homovanílico (HVA), a administração sistêmica de MPTP foi capaz de reduzir os níveis de noradrenalina nas áreas corticais e límbicas (PIFL *et al.*, 1991), dos níveis de serotonina e do ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) (RUSS *et al.*, 1991; PIFL *et al.*, 1991; PIFL *et al.*, 1990; UEKI *et al.*, 1989). Assim, nós sugerimos que a infusão intranigral de MPTP foi capaz de induzir sinais depressivos em ratos avaliados no teste da natação forçada versão modificada, provavelmente devido à redução na

transmissão dopaminérgica, noradrenérgica e serotoninérgica. Entretanto, deve-se ressaltar que o teste de natação forçada foi realizado 48 horas após a infusão de MPTP e que pode ter ocorrido também comprometimento motor dos animais, fato que indicaria um resultado falso-positivo. Por esta razão, futuros estudos já estão sendo realizados para confirmar o efeito depressor do MPTP neste modelo animal para o screening de drogas antidepressivas.

Apesar da administração da reserpina e do MPTP serem bastante utilizados no estudo da etiologia e no desenvolvimento de novas terapias farmacológicas na doença de Parkinson, ambos modelos possuem desvantagens relevantes. A reserpina é um modelo de parkinsonismo reversível, sendo que a depleção monoaminérgica é imediata e a hipolocomoção foi observada até 7 dias após a sua administração em camundongos (TADAIESKI *et al.*, 2005). O modelo do MPTP também é reversível, no entanto a depleção inicial é dopaminérgica e depois ocorre a depleção dos níveis de serotonina e noradrenalina. Além disso, em nossos resultados, observamos que a hipolocomoção foi mais persistente (até 14 dias) e as alterações cognitivas foram observadas 21 dias após a infusão da neurotoxina (BRAGA *et al.*, 2005; PERRY *et al.*, 2004).

A nimesulida (25mg/Kg), administrada 1 hora antes da cirurgia estereotáxica não foi capaz de reverter a redução no tempo de escalada e natação (**Figuras 54 e 55**), bem como no tempo de imobilidade (**Figura 56**) dos ratos avaliados 48 horas após a indução da neurotoxina. A ausência de neuroproteção da nimesulida no parkinsonismo induzido por MPTP poderia ainda ser atribuído a uma falha deste antiinflamatório em cruzar a barreira hematoencefálica. No entanto, os resultados da reserpina não confirmam esta premissa. Além disso, CANDELARIO-JALIL *et al.* (2004) demonstraram o efeito neuroprotetor da nimesulida em um modelo animal de isquemia. Ainda nesta linha de raciocínio, JAIN *et al.* (2000), mostraram que este antiinflamatório causou melhora da resposta cognitiva no teste do labirinto em cruz elevado em camundongos velhos e reverteu o prejuízo cognitivo induzido pela escopolamina em camundongos jovens e velhos. De fato, estes resultados indicam que a nimesulida deve ter sido capaz de atravessar a barreira hematoencefálica e exercer seus efeitos

antiinflamatórios, sem, no entanto, apresentar efeito neuroprotetor neste modelo de parkinsonismo.

Como discutido anteriormente, a nimesulida é uma droga antiinflamatória não-esteroidal preferencial para a isoforma COX-2. Além da atividade sobre a COX-2, a nimesulida demonstrou inibir a produção de radicais livres e a produção de células inflamatórias (KULKARNI, 2002), bem como a redução da expressão do gene da COX-2 induzido por interleucina-1 β em fibroblastos sinoviais humanos (FAHMI *et al.*, 2001). Além destas propriedades, a nimesulida reduziu em 50% a elevação da interleucina-1 β induzida pelo ácido quisquálico no interior do núcleo basal de ratos, atenuando fortemente a reação da micróglia, reduzindo o número de células positivas para óxido nítrico sintase indutível e abolindo a formação de prostaglandina-E₂ (SCALI *et al.*, 2000). Entretanto, em um modelo animal da doença de Alzheimer em camundongos, a administração prolongada de nimesulida não produziu efeito sobre a formação de placas senis e sobre a atividade do fator nuclear kappa B (NF- κ B) (SUNG *et al.*, 2004). O tratamento com nimesulida em 40 pacientes portadores da doença de Alzheimer também não mostrou melhora significativa nos escores de cognição, comportamento e atividades diárias (AISEN *et al.*, 2002).

Tomados em conjunto, nossos dados são sugestivos de um efeito protetor dos antiinflamatórios em modelos animais de parkinsonismo induzida pela reserpina. De modo geral, verificamos que os inibidores seletivos da COX-2, parecoxib e nimesulida, apresentaram efeitos mais significativos. Por outro lado, os efeitos dos antiinflamatórios não seletivos para a COX-2 (indometacina) e os esteroidais (dexametasona), não se mostraram muito promissores. Deste modo, futuros estudos poderão ajudar a entender as questões acima levantadas.

6. CONCLUSÃO

- No modelo animal de parkinsonismo induzida pela reserpina, a administração desta droga provocou a redução da atividade geral dos ratos avaliados no teste do campo aberto;
- A administração de reserpina produziu a redução do tempo de natação e aumento do tempo de imobilidade dos animais avaliados no teste da natação forçada versão modificada;
- A administração dos antiinflamatórios dexametasona, indometacina, nimesulida e parecoxib reverteu a hipoatividade dos animais reserpinizados observados no teste do campo aberto;
- No teste da natação forçada, apenas a nimesulida e o parecoxib foram capazes de aumentar o tempo de natação e reduzir o tempo de imobilidade dos animais reserpinizados;
- A infusão de MPTP causou redução da atividade geral dos animais 24 h, 7 e 14 dias após a cirurgia.
- No teste da natação forçada, a infusão de MPTP resultou na redução dos tempos de escalada e natação, enquanto houve aumento do tempo de imobilidade dos animais;
- A administração prévia e prolongada de nimesulida durante 28 dias não foi capaz de reverter a hipoatividade induzida pelo MPTP e observada no teste do campo aberto;
- A administração de nimesulida não alterou os efeitos do MPTP em ratos submetidos ao teste de natação forçada.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGID, Y.; RUBERG, M.; RAISMAN-VOZARI, R. et al. The biochemistry of Parkinson's disease. In: STERN, G.M. (Ed). **Parkinson's disease**. London, Chapman & Hall, p. 99-125, 1990.

AHLISKOG, J.E. Diagnosis and differential diagnosis of Parkinson's disease and parkinsonism. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 7, p. 63-70, 2001.

AISEN, P.S.; DAVIS, K.L.; BERG, J.D. et al. A randomized controlled trial of prednisone in Alzheimer's disease. **Neurology**, v. 54, p. 588-593, 2000.

AISEN, P.S.; SCHMEIDLER, J.; PASINETTI, G.M. Randomized pilot study of nimesulide treatment in Alzheimer's disease. **Neurology**, v. 59(8), p. 1050-1054, 2002.

ALLAN, S.M.; ROTHWELL, N.J. Cytokines and acute neurodegeneration. **Nat Rev Neurosci**, v. 2, p. 734-744, 2001.

ALVES, C.S.D.; ANDREATINI, R.; da CUNHA, C.; TUFIK, S.; VITAL, M.A.B.F. Phosphatidylserine reverses reserpine-induced amnesia. **European Journal of Pharmacology**, v. 404(1-2), p. 161-167, 2000.

APPELHOF, B.C.; HUYSER, J.; VERWEIJ, M. et al. Glucocorticoids and relapse of major depression (dexamethasone/corticotrophin-releasing hormone test in relation to relapse of major depression). **Biol Psychiatry**, article in press, 2005.

ARAKI, E.; FORSTER, C.; DUBINSKY, J.M. Cyclooxygenase-2 inhibitor NS-398 protects neuronal cultures from lipopolysaccharide-induced neurotoxicity. **Stroke**, v. 32, p. 2370-2375, 2001.

ARAKI, T.; KUROSAKI, R.; MURAMATSU, Y.; KATO, H. Biochemical, behavioral and immunohistochemical alterations in MPTP-treated mouse model of Parkinson's disease. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 78(1), p. 143-153, 2004.

AUBIN, N. et al. Aspirin and salicylate protect against MPTP-induced dopamine depletion in mice. **J. Neurochem.**, v. 71, p. 1635-1642, 1998.

BARBOSA, E.R.; LIMONGI, J.C.P.; CUMMINGS, J.L. Parkinson's disease. In: MIGUEL, E.C.; RAUCH, S.L.; LECKMAN, J.F. (Eds). **Neuropsychiatry of the Basal Ganglia**. The Psychiatric Clinics of North América, Saunders, Philadelphia, p. 769-790, 1997.

BARCIA, C.; BAHILLO, A.S.; FERNANDEZ-VILLALBA, E. et al. Evidence of active microglia in substantia nigra pars compacta of parkinsonian monkeys 1 year after MPTP exposure. **Glia**, v. 46, p. 402-409, 2004.

BAS, J.; CALOPA, M.; MESTRE, M. et al. Lymphocyte populations in Parkinson's disease and in rat models of parkinsonism. **J Neuroimmunol**, v. 113, p. 146-152, 2001.

BEJJANI, B.P.; DAMIER, P.; ARNULF, I. et al. Transient acute depression induced by high-frequency deep-brain stimulation. **The New England Journal of Medicine**, v. 340, p. 1476-1480, 1999.

BERMAN, S.B.; HASTINGS, T.G. Inhibition of glutamate transport in synaptosomes by dopamine oxidation and reactive oxygen species. **J Neurochem**, v. 69, p. 1185-1195, 1997.

BERMAN, S.B.; HASTINGS, T.G. Dopamine oxidation alters mitochondrial respiration and induces permeability transition in brain mitochondria: implications for Parkinson's disease. **J Neurochem**, v. 73, p. 1127-1137, 1999.

BERNEY, A.; VINGERHOETS, F.; PERRIN, A. ET AL. Effect on mood of subthalamic DBS for Parkinson's disease: a consecutive series of 24 patients. **Neurology**, v. 59, p. 1427-1429, 2002.

BLAIS, V.; TURRIN, N.P.; RIVEST, S. Cyclooxygenase 2 (COX-2) inhibition increases the inflammatory response in the brain during systemic immune stimuli. **J Neurochem**, v. 95(6), p. 1563-1574, 2005.

BLANDINI, F.; NAPPI, G.; TASSORELLI, C.; MARTIGNONI, E. Functional changes of basal ganglia circuitry in Parkinson's disease. **Progress in Neurobiology**, v. 62, p. 63-88, 2000.

BLUM, D.; TORCH, S.; LAMBENG, N. et al. Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. **Progress in Neurobiology**, v. 65, p. 135-172, 2001.

BLUM-DEGEN, D.; MULLER, T.; KUHN, W. et al. Interleukin-1 beta and interleukin-6 are elevated in the cerebrospinal fluid of Alzheimer's and de novo Parkinson's disease patients. **Neurosci Lett**, v. 202, p. 17-20, 1995.

BORSINI, F.; MELI, A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? **Psychopharmacology**, v. 94, p. 147-160, 1988.

BOURIN, M.; PUECH, A.J.; CHERMAT, R. et al. Profils psychopharmacologiques des nouveaux antidépresseurs comparés aux antidépresseurs classiques. **Encéphale**, v. 7, p. 235-242, 1981.

BRAAK, H.; RÜB, U.; SANDMANN-KEIL, D. et al. Parkinson's disease: affection of brain stem nuclei controlling premotor and motor neurons of the somatomotor system. **Acta Neuropathol**, v. 99, p. 489-495, 2000.

BRAAK, H.; TREDICI, K.D.; RÜB, U. et al. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. **Neurobiology of Aging**, v. 24, p. 197-211, 2003.

BRAGA, A.R. Efeitos do parecoxib – um inibidor da COX-2 - no modelo de Parkinsonismo induzido por MPTP em ratos. Tese de Mestrado, Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, 2005.

BREDER, C.D.; DEWITT, D.; KRAIG, R.P. Characterization of inducible cyclooxygenase in rat brain. **J Comp Neurol**, v. 355, p. 296-315, 1995.

BROADHURST, P.L. Experiments in psychogenetics. In: EISENK, H.J. **Experiments in personality**. Routledge & Kegan Paul, London, 1960.

BURN, D.J. Beyond the iron mask: towards a better recognition and treatment of depression associated with Parkinson's disease. **Movement Disorders**, v. 17, p. 445-454, 2002.

CAMADOLA, S.; POLI, G.; MATTSON, M.P. The lipid peroxidation product 4-hydroxy-2,3-nonenal increases AP-1 binding activity through caspase activation in neurons. **J Neurochem**, v. 74, p. 159-168, 2000.

CANDELARIO-JALIL, E.; GONZÁLEZ-FALCÓN, A.; GARCÍA-CABRERA, M. et al. Wide therapeutic time window for nimesulide neuroprotection in a model of transient focal cerebral ischemia in the rat. **Brain Res**, v. 007, p. 98-108, 2004.

CANDY, J.M.; PERRY, R.H.; PERRY, E.K. et al. Pathological changes in the nucleus of Meynert in Alzheimer's and Parkinson's diseases. **J Neurol Sci**, v. 59, p. 277-289, 1983.

CANTELLO, R.; GILLI, M.; DELSEDIME, M.; et al. Major depression in Parkinson's disease and the mood response to intravenous methylphenidate: possible role of the "hedonic" dopamine synapse. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**, v. 52, p. 724-731, 1989.

CANTELLO, R.; GILLI, M.; RICCIO, A.; BERGAMASCO, B. Mood changes associated with "end-of-dose deterioration" in Parkinson's disease: a controlled study. **J Neurol Neuros Psychiatry**, v. 49, p. 1182-1190, 1986.

CARLSSON, A.; LUNDQVIST, M.; MAGNUSSON, T. 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. **Nature**, v. 180, p. 1200, 1957.

CASTANO, A. et al. Lipopolysaccharide intranigral injection induces inflammatory reaction and damage in nigrostriatal dopaminergic system. **J. Neurochem.**, v. 70, p. 1584-1592, 1998.

CASTANO, A. et al. The degenerative effect of a single intranigral injection of LPS on the dopaminergic system is prevented by dexamethasone and not mimicked by rh-TNF-alpha, IL-1beta and IFN-gamma. **J. Neurochem.**, v. 81, p. 150-157, 2002.

CHAN, P.; DeLANNEY, L.E.; IRWIN, I. et al. MPTP-induced ATP loss in mouse brain. **Ann NY Acad Sci**, v. 648, p. 306-308, 1992.

CHAN-PALAY, V.; ASAN, E. Alterations in catecholamine neurons of the locus coeruleus in senile dementia of Alzheimer type and in Parkinson's disease with and without dementia and depression. **J. Comp. Neurol.**, v. 287 (3), p. 373-392, 1989.

CHEN, H.; ZHANG, S.M.; HERMAN, M.A. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the risk of Parkinson's disease. **Arch Neurol**, v. 60, p. 1059-1064, 2003.

CHIBA, K.; TREVOR, A.; CASTAGNOLI, N.Jr. Metabolism of the neurotoxic tertiary amine, MPTP, by brain monoamino oxidase. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 120, p. 574-578, 1984.

CHUNG, K.K.; DAWSON, V.L.; DAWSON, T.M. The role of the ubiquitin-proteosomal pathway in Parkinson's disease and other neurodegenerative disorders. **TINS**, v. 24, p. S7-S14, 2001.

CHUNG, T.H.; DEANE, K.H.O.; GHASI-NOORI, S. et al. Systematic review of antidepressant therapies in Parkinson's disease. **Parkinsonism Rel Disord**, v. 10, p. 59-65, 2003.

CICCHETTI F. et al. Neuroinflammation of the nigrostriatal pathway during progressive 6-OHDA dopamine degeneration in rats monitored by immunohistochemistry and PET imaging. **Eur. J. Neurosci.**, v. 15, p. 991-998, 2002.

COLPAERT, F.C. Pharmacological characteristics of tremor, rigidity and hypokinesia induced by reserpine in rats. **Neuropharmacol**, v. 26, p. 1431-1440, 1987.

CORRIGAN, F.M.; MURRAY, L.; WYATT, C.L. SHORE, R.F. Diorthosubstituted polychlorinated biphenyls in caudate nucleus in Parkinson's disease. **Exp Neurol**, v. 150, p. 339-342, 1998.

CRYAN, J.F.; MARKOU, A.; LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. **Trends in Pharmacol Sci**, v. 23 (5), p. 238-245, 2002.

CUMMINGS, J.L. Depression and Parkinson's disease: a review. **The American Journal of Psychiatry**, v. 149, p. 443-454, 1992.

D'AMATO, R.J.; LIPMAN, Z.P.; SNYDER, S.H. Selectivity of the parkinsonian neurotoxin MPTP: toxic metabolite MPP⁺ binds to neuromelanin. **Science**, v. 231, p. 987-989, 1986.

D'AMATO, R.J.; ALEXANDER, G.M.; SCHWARTZMAN, R.J. et al. Evidence for neuromelanin involvement in MPTP-induced neurotoxicity. **Nature**, v. 327, p. 324-326, 1987.

da CUNHA, C.; GEVAERD, M.S.; VITAL, M.A.B.F.; MIYOSHI, E.; ANDREATINI, R.; SILVEIRA, R.; TAKAHASHI, R.N.; CANTERAS, N.S. Memory disruption in rats with nigral lesions induced by MPTP: a model for early Parkinson's disease amnesia. **Beh Brain Res**, v. 124, p. 9-18, 2001.

DAHLSTRÖM, A.; FUXE, K. Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. **Acta Physiol. Scand**, v. 62(232), p. 1-80, 1964.

DAMIER, P.; HIRSCH, E.C.; AGID, Y.; GRAYBIEL, A.M. The substantia nigra of the human brain. II. Patterns of loss of dopamine-containing neurons in Parkinson's disease. **Brain**, v. 122, p. 1437-1448, 1999.

DANIEL, J.R.; MAURO, V.F. Extrapyramidal symptoms associated with calcium-channel blockers. **Ann. Pharmacother.**, v. 9(1), p. 73-75, 1995.

DAVIS, G.C.; WILLIAMS, A.C.; MARKEY, S.P. Chronic Parkinsonism secondary to intravenous injection of meperidine analogues. **Psychiatry Res.**, v. 1, p. 249-254, 1979.

DAWSON, V.L.; DAWSON, T.M. Nitric oxide neurotoxicity. **J Chem Neuroanat**, v. 10, p. 179-190, 1996.

DESJARDINS, P.J.; GROSSMAN, E.H.; KUSS, M.E. et al. The injectable cyclooxygenase-2-specific inhibitor parecoxib sodium has analgesic efficacy when administered preoperatively. **Anesth Analg**, v. 93(3), p. 721-727, 2001.

DETKE, M.J.; RICKELS, M.; LUCKI, I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 121(1), p. 66-72, 1995.

DEUMENS, R.; BLOKLAND, A.; PRICKAERTS, J. Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. **Exp. Neurol**, v. 175, p. 303-317, 2002.

DEXTER, D.T.; WELL, F.R.; LEES, A.J. et al. Increased nigral iron content and alterations in other metal ions occurring in brain in Parkinson's disease. **J Neurochem**, v. 52, p. 1830-1836, 1989.

DEXTER, D.T.; CARAYON, A.; VIDAILHET, M. et al. Decreased ferritin in brain in Parkinson's disease. **J. Neurochem.**, v. 55, p. 16-20, 1990.

DI MONTE, D.A.; LAVASANI, M.; AMY, B. et al. Environmental factors in Parkinson's disease. **Neurotoxicology**, v. 23, p. 487-502, 2002.

DIFAZIO, M.C.; HOLLINGSWORTH, Z.; YOUNG, A.B. PENNEY Jr., J.B. Glutamate receptors in the substantia nigra of Parkinson's disease brains. **Neurology**, v. 42, p. 402-406, 1992.

DU, Y. et al. Minocycline prevents nigrostriatal dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson's disease. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 98, p. 14669-14674, 2001.

DUBOIS, B.; PILLON, B. Cognitive deficits in Parkinson's disease. **J Neurol**, v. 244, p. 2-8, 1997.

DUTRA, R.C.; ANDREAZZA, A.P.; ANDREATINI, R.; TUFIK, S.; VITAL, M.A.B.F. Behavioral effects of MK-801 on reserpine-treated mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 26, p. 487-495, 2002.

EARLE, K.M. Studies on Parkinson's disease including x-ray fluorescent spectroscopy of formalin fixed brain tissue. **J Neuropathol Exp Neurol**, v. 27, p. 1-14, 1968.

EMBORG, M.E. Evaluation of animal models of Parkinson's disease for neuroprotective strategies. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 139, p. 121-143, 2004.

EMERIT, J.; EDEAS, M.; BRICAIRE, F. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 58, p. 39-46, 2004.

ENGELENDER, S.; KAMINSKY, Z.; GUO, X. et al. Synphilin-1 associates with alpha-synuclein and promotes the formation of cytosolic inclusions. **Nat. Genet.**, v. 22, p. 110-114, 1999.

FAHMI, H.; HE, Y.; ZHANG, J et al. Nimesulide reduces interleukin-1 β -induced cyclooxygenase-2 gene expression in human synovial fibroblasts. **Journal of the Osteoarthritis Research Society International**, v. 9, p. 332-340, 2001.

FAHN, S. Adverse effects of levodopa. In: OLANOW, C.W.; LIEBERMAN A.N. (ed). **The scientific basis for the treatment of Parkinson's disease**. Parthenon Publishing, Lancashire, p. 89-112, 1992.

FAULKNER, J.R. et al. Reactive astrocytes protect tissue and preserve function after spinal cord injury. **J Neurosci**, v. 24, p. 2143-2155, 2004.

FEARNLEY, S.B.; LEES, A.J. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. **Brain**, v. 114, p. 2283-2301, 1991.

FENG, Z.H. et al. Cyclooxygenase-2-deficient mice are resistant to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced damage of dopaminergic neurons in the substantia nigra. **Neurosc. Lett.**, v. 329, p. 354-358, 2002.

FERRARESE, C.; TREMOLIZZO, L.; RIGOLDI, M. et al. Decreased platelet glutamate uptake and genetic risk factors in patients with Parkinson's disease. **Neurol Sci**, v. 22, p. 65-66, 2001.

FERRO, M.M.; BELLISSIMO, M.I.; ANSELMO-FRANCI, J.A.; ANGELLUCCI, M.E.; CANTERAS, N.S.; da CUNHA, C. Comparison of bilaterally 6-OHDA-and MPTP-lesioned rats as models of the early phase of Parkinson's disease: histological, neurochemical, motor and memory alterations. **J Neurosci Methods**, v. 148(1), p. 78-87, 2005.

FISHER, J.; MIZRAHI, T.; SCHORI, H. et al. Increased post-traumatic survival of neurons in IL-6 knockout mice on a background of EAE susceptibility. **J Neuroimmunol**, v. 119, p. 1-9, 2001.

FLEMING, L.; MANN, J.B.; BEAN, J. et al. Parkinson's disease and brain levels of organochlorine pesticides. **Ann Neurol**, v. 36, p. 100-103, 1994.

FLOOR, E.; WETZEL, M.G. Increased protein oxidation in human substantia nigra pars compacta in comparison with basal ganglia and prefrontal cortex measured with an improved dinitrophenylhydrazine assay. **J Neurochem**, v. 70, p. 268-275, 1998.

FRIEDENBERG, D.L.; CUMMINGS, J.L. Parkinson's disease, depression, and the on-off phenomenon. **Psychosomatics**, v. 30, p. 94-99, 1989.

GAO, H.M.; LIU, B.; ZHANG, W.; HONG, J. Novel anti-inflammatory therapy for Parkinson's disease. **Trends Pharmacol Sci**, v. 24(8), p. 395-401, 2003.

GASPAR, P.; FEBVRET, A.; COLOMBO, J. Serotonergic sprouting in primate MPTP-induced hemiparkinsonism. **Exp Brain Res**, v. 96(1), p. 100-106, 1993.

GELB, D.J.; OLIVER, E.; GILMAN, S. Diagnostic criteria for Parkinson disease. **Arch. Neurol.**, v. 56, p. 33-39, 1999.

GERLACH, M.; RIEDERER, P. Animals models of Parkinson's disease: an empirical comparison with the phenomenology of the disease in man. **J. Neural. Transm.**, v. 103, p. 987-1041, 1996.

GESI, M.; SANTINAMI, A.; RUFFOLI, R. et al. Novel aspects of dopamine oxidative metabolism (confounding outcomes take place of certainties). **Pharmacol Toxicol**, v. 89, p. 217-224, 2001.

GEVAERD, M.S.; MIYOSHI, E. SILVEIRA, S.; CANTERAS, N.S.; TAKAHASHI, R.N.; da CUNHA, C. L-DOPA restores striatal dopamine level but fails to reverse MPTP-induced memory deficits in rats. **Int J Neuropsychopharmacol**, v. 4, p. 361-370, 2001.

GIASSON, B.I.; LEE, V.M. Parkin and the molecular pathways of Parkinson's disease. **Neuron**, v. 31, p. 885-888, 2001.

GORELL, J.M., JOHNSON, C.C.; RYBICKI, B.A. et al. Occupational exposures to metals as risk factors for Parkinson's disease. **Neurology**, v. 48, p. 650-658, 1997.

GORELL, J.M., JOHNSON, C.C.; RYBICKI, B.A. et al. Occupational exposure to manganese, copper, lead, iron, mercury and zinc and the risk of Parkinson's disease. **Neurotoxicology**, v. 20, p. 239-248, 1999.

GOTZ, M.E.; KUNING, G.; RIEDERER, P.; YODIM, M.B. Oxidative stress: free radical production in neural degeneration. **Pharmacol Ther**, v. 63, p. 37-122, 1994.

GREEN, J.; McDONALD, W.M.; VITEK, J.L. et al. Neuropsychological and psychiatric sequelae of pallidotomy for PD: clinical trial findings. **Neurology**, v. 58, p. 858-865, 2002.

GREENAMYRE, J.T.; ELLER, R.V.; ZHANG, Z. et al. Antiparkinsonian effects of remacemide hydrochloride, a glutamate antagonist, in rodent and primate models of Parkinson's disease. **Ann Neurol**, v. 35, p. 655-661, 1994.

HAEFELY, W. Pharmakologische Modelle zur Wirkung von Antiparkinsonmitteln. In: FISCHER, P.A. (Hrsg) **Langzeitbehandlung des Parkinson-Syndroms**. Stuttgart New York, Schattauer, p. 53-64, 1978.

HALD, A.; LOTHARIUS, J. Oxidative stress and inflammation in Parkinson's disease: Is there a causal link? **Experimental Neurology**, v. 193(2), p. 279-290, 2005.

HALLIDAY, G.M.; MCRITCHIE, D.A.; CARTWRIGHT, H. et al. Midbrain neuropathology in idiopathic Parkinson's disease and diffuse Lewy body disease. **J. Clin. Neurosci.**, v. 3, p. 52-60, 1996.

HANISH, L.D; GUERRA, N.G. A longitudinal analysis of patterns of adjustment following peer victimization. **Dev Psychopathol**, v. 14(1), p. 69-89, 2002.

HANTRAYE, P.; VARASTET, M.; PESCHANSKI, M. et al. Stable parkinsonian syndrome and uneven loss of striatal dopamine fibres following chronic MPTP administration in baboons. **Neuroscience**, v. 53, p. 169-178, 1993.

HAOBAM, R.; SINDHU, K.M.; CHANDRA, G.; MOHANAKUMAR, K.P. Swim-test as function of motor impairment in MPTP model of Parkinson's disease: a comparative study in two mouse strains. **Behav Brain Res**, v. 163(2), p. 159-167, 2005.

HARDIE, R.J.; LEES, A.J.; STERN, G.M. On-off allucinations in Parkinson's disease. A clinical and neuropharmacological study. **Brain**, v. 107, p. 487-506, 1984.

HASTINGS, T.G. Enzymatic oxidation of dopamine: the role of prostaglandin H synthase. **J. Neurochem**, v. 64, p. 919-924, 1995.

HAWEL, M. et al. Innate (inherent) control of brain infection, brain inflammation and brain repair: the role of microglia, astrocytes, "protective" glial stem cells and stromal ependymal cells. **Brain Res Rev**, v. 48, p. 220-233, 2005.

HAWKES, C.H.; SHEPHARD, B.C.; DANIEL, S.E. Olfactory dysfunction in Parkinson's disease. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 62, p. 436-446, 1997.

HAWKES C.H.; SHEPHARD, B.C.; DANIEL, S.E. Is Parkinson's disease a primary olfactory disorder? **Q J Med**, v. 92, p. 473-480, 1999.

HEMBY, S.E., CO, C., KOVES, T.R., SMITH, J.E., DWORKIN, S.I. Differences in extracellular dopamine concentrations in the nucleus accumbens during response-dependent and response-independent cocaine administration in the rat. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 133(1), p. 7-16, 1997.

HEMMER, K.; FRANSEN, L.; VANDERSTICHELE, H. et al. An in vitro model for the study of microglia-induced neurodegeneration: involvement of nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha. **Neurochem Int**, v. 38, p. 557-565, 2001.

HERRERA, A.J. et al. The single intranigral injection of LPS as a new model for studying the selective effects of inflammatory reactions on dopaminergic system. **Neurobiol. Dis.**, v. 7, p. 429-447, 2000.

HEWETT, S.; ULIASZ, T.F.; VIDWANS, A.S.; HEWTT, J.A. Cyclooxygenase-2 contributes to N-Methyl-D-aspartate mediated neuronal cell death in primary cortical cell culture. **JPET**, v. 293, p. 417-425, 2000.

HIRSCH, E.C.; HUNOT, S.; DAMIER, P.; FAUCHEUX, B. Glial cells and inflammation in Parkinson's disease: a role in neurodegeneration? **Ann. Neurol.**, vol 44(1), p. S115-S120, 1998.

HIRSCH, E.; HUNOT, S.; HARTMANN, A. Neuroinflammatory process in Parkinson's disease. **Parkinsonism Rel Disord**, v. 11, p. S9-S15, 2005.

HISANAGA, K.; ASAGI, M.; ITOYAMA Y. et al. Increase in peripheral CD4 bright⁺ CD8 dull⁺ T cells in Parkinson's disease. **Arch Neurol**, v. 58, p. 1580-1583, 2001.

HOEHN, B.D.; PALMER, T.D.; STEINBERG, G.J. Neurogenesis in rats after focal cerebral ischemia is enhanced by indomethacin. **Stroke**, v. 36(12), p. 2718-2724, 2005.

HOOGENDIJK, W.J.G.; PURBA, J.B.; HOFMAN, M.A. et al. Depression in Parkinson's disease is not accompanied by more corticotrophin-releasing hormone expressing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus. **Biological Psychiatry**, v. 43, p. 913-917, 1998.

HORSTINK, M.M.; MORRISH, P.K. Preclinical diagnosis of Parkinson's disease. **Adv. Neurol.**, v. 80, p. 327-333, 1999.

HUNOT, S.; BOISSERE, F.; FAUCHEUX, B. et al. Nitric oxide synthase and neuronal vulnerability in Parkinson's disease. **Neuroscience**, v. 72, p. 355-363, 1996.

HUNOT, S.; DUGAS, N.; FAUCHEUX, B. et al. FcεRII/CD23 is expressed in Parkinson's disease and induces, *in vitro*, production of nitric oxide and tumor necrosis alpha in glial cells. **J Neurosci**, v. 19, p. 3440-3447, 1999.

IRAVANI, M.M.; KASHEFI, K.; MANDER, P. et al. Involvement of inducible nitric oxide synthase in inflammation-induced dopaminergic neurodegeneration. **Neuroscience**, v. 110, p. 49-58, 2002.

JACKSON-LEWIS, V.; SMEYNE, R.J. MPTP and SNpc DA neuronal vulnerability: role of dopamine, superoxide and nitric oxide in neurotoxicity. Minireview. **Neurotox Res**, v. 7(3), p. 193-202, 2005.

JAIN, N.K.; KULKARNI, S.K.; SINGH, A. LPS-mediated immobility in mice: reversal by cyclooxygenase enzyme inhibitors. **Methods Find Exp Clin Pharmacol**, v. 23(8), p. 441-444, 2001.

JAIN, N.K.; PATIL, C.S.; KULKARNI, S.K.; SINGH, A. Modulatory role of cyclooxygenase inhibitors in aging-and scopolamine or LPS-induced cognitive dysfunction in mice. **Behav Brain Res**, v. 133, p. 369-376, 2002.

JANKOVIC, J. Natural course and limitation of levodopa therapy. **Neurology**, v. 43(1), p. S14-17, 1993.

JENNER, P. The contribution of the MPTP-treated primate model to the development of new treatment strategies for Parkinson's disease. **Parkinsonism Rel Disord**, v. 9, p. 131-137, 2003.

KANDEL, E.R. Disorders of mood: depression, mania and anxiety disorders. In: KANDEL, E.R., SCHWARTZ, J.H., JESSEL, T.M. (Eds.), **Principles of Neural Sciences**, third ed, Elsevier, New York, pp. 869-89, 1991.

KANNER, A.; BARRY, J. The impact of mood disorders in neurological diseases: should neurologists be concerned? **Epilepsy & Behavior**, v. 4.; p. S3-S13, 2003.

KIM, W.G. et al. Regional difference in susceptibility to lipopolysaccharide-induced neurotoxicity in the rat brain: role of microglia. **J. Neurosci.**, v. 20, p. 6309-6316, 2000.

KIM, J.S.; KIM, J.M.; JUNG, H.C.; SONG, I.S. Expression of cyclooxygenase-2 in human neutrophils activated by helicobacter pylori water-soluble proteins: possible involvement of NF-kB and MAP kinase signaling pathway. **Dig Dis Sci** v. 46(10), p. 2277-2284, 2001.

KIRIK, D.; ROSENBLAD, C.; BURGER, C. et al. Parkinson-like neurodegeneration induced by targeted overexpression of alpha-synuclein in the nigrostriatal system. **J. Neurosci.**, v. 22, p. 2780-2791, 2002.

KREUTZBERG, G.W. Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. **Trends Neurosci.**, v. 19, p. 312-318, 1996.

KRUGER, R.; KUHN, W.; MULLER, T. et al. Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease. **Nat. Genet.**, v.18, p. 106-108, 1998.

KUHN, D.M.; ARTHUR Jr., R.E.; THOMAS, D.M.; ELFERINK, L.A. Tyrosine hydroxylase is inactivated by catechol-quinones and converted to a redox-cycling quinoprotein: possible relevance to Parkinson's disease. **J Neurochem**, v. 73, p. 1309-1317, 1999.

KULKARNI, S.K. On the safety of nimesulide, a preferential COX-2 inhibitor. **Current Science**, v. 83(12), p. 1442-1443, 2002.

KURKOWSKA-JASTRZEBSKA, I. et al. The inflammatory reaction following MPTP intoxication in mouse. **Exp. Neurol.**, v. 156, p. 50-61, 1999.

KURKOWSKA-JASTRZEBSKA, I.; BABIUCH, M.; JONIEC, I. et al. Indomethacin protects against neurodegeneration caused by MPTP intoxication in mice. **International Immunopharmacology**, v. 2, p. 1213-1218, 2002.

KURKOWSKA-JASTRZEBSKA, I.; LITWIN, T. JONIEC, I. et al. Dexamethasone protects against dopaminergic neurons damage in a mouse model of Parkinson's disease. **Int Immunopharmacol**, v. 4(10-11), p. 1307-1318, 2004.

KUROSAKI, R.; MURAMATSU, Y.; KATO, H.; ARAKI, T. Biochemical, behavioral and immunohistochemical alterations in MPTP-treated mouse model of Parkinson's disease. *Pharmacol Biochem Behav*, v. 78(1), p. 143-153, 2004.

LANG, A.E.; LOZANO, A.M. Parkinson's disease. First of two parts. **N. Engl. J. Med.**, v. 339, p. 1044-1053, 1998.

LANGSTON, J.W.; BALLARD, P.; TETRUD, J.W. IRWIN, I. Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. **Science**, v. 219, p. 979-980, 1983.

LANGSTON J.W. et al. Evidence of active nerve cell degeneration in the substantia nigra of humans years after 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine exposure. **Ann Neurol**, v. 46, p. 598-605, 1999.

LEES, A.J. Trauma and Parkinson's disease. **Rev. Neurologique**, v. 153(10), p. 541-546, 1997.

LIBERATORE G.T. et al. Inducible nitric oxide synthase stimulates dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson's disease. **Nat. Med.**, v. 5, p. 1403-1409, 1999.

LIBERTO, C.M. et al. Pro-regenerative properties of cytokine-activated astrocytes. **J Neurochem**, v. 89, p. 1092-1100, 2004.

LIU, H.H.; TSAI, M.C.; CHEN, C.J. et al. Environmental risk factors and Parkinson's disease: a case-control study in Taiwan. **Neurology**, v. 48, p. 1583-1588, 1997.

LIU, B. et al. Naloxone protects rat dopaminergic neurons against inflammatory damage through inhibition of microglia activation and superoxide generation. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 293, p. 607-617, 2000.

LIU, B.; GAO, H.M.; WANG, J.Y. et al. Role of nitric oxide in inflammation-mediated neurodegeneration. **Ann N Y Acad Sci**, p. 318-331, 2002.

LIU, B.; HONG, J.S. Role of microglia in inflammation-mediated neurodegenerative diseases: mechanisms and strategies for therapeutic intervention. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 304, p. 1-7, 2003.

LUCKI, I. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. **Behav Pharmacol**, v. 8, p. 523-532, 1997.

MAHARAJ, D.S.; SARAVANAN, K.S.; MAHARAJ, H. et al. Acetaminophen and aspirin inhibit superoxide anion generation and lipid peroxidation, and protect against 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced dopaminergic neurotoxicity in rats. **Neurochemistry International**, v. 44, p. 355-360, 2004.

MARCHETTI, B.; ABBRACCHIO, M.P. To be or not to be (inflamed) – is that the question in anti-inflammatory drug therapy of neurodegenerative disorders? **Trends Pharmacol Sci**, v. 26 (10), p. 517-525, 2005.

MARICLE, R.A.; NUTT, J.G.; CARTER, J.H. Mood and anxiety fluctuation in Parkinson's disease associated with levodopa infusion: preliminary findings. **Movement Disorders**, v. 10, p. 329-332, 1995.

MAYEUX, R.; WILLIAMS, J.B.W.; STERN, Y.; COTE, L. Depression in Parkinson's disease. **Adv. Neurol.**, v. 40, p. 241-250, 1984.

MCDONALD, H.Y.; RICHARD, I.H.; DELONG, M.R. Prevalence, etiology, and treatment of depression in Parkinson's disease. **Biological Psychiatry**, v. 54, p. 363-375, 2003.

McGEER, P.L.; ITAGAKI, S.; BOYES, B.E.; McGEER, E.G. Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. **Neurology**, v. 38, p. 1285-1291, 1988.

McGEER, P.L.; McGEER, E.G. Glial cell reactions in neurodegenerative diseases: pathophysiology and therapeutic interventions. **Alzheimer Dis Assoc Disord**, v. 12(2), p. S1-S6, 1998.

McGEER, E.G.; McGEER P.L. Inflammatory processes in Alzheimer's disease. **Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 27, p. 741-749, 2003.

McGEER, P.L.; McGEER, E.G. Inflammation and neurodegeneration in Parkinson's disease. **Parkinsonism Relat Disord**, v. 10 (1), p. S3-S7, 2004.

McNAUGHT, K.S.; OLANOW, C.W. Proteolytic stress: a unifying concept for the etiopathogenesis of Parkinson's disease. **Ann Neurol**, v. 53(3), p. S73-S86, 2003.

McRITCHIE, D.A.; CARTWRIGHT, H.R.; HALLIDAY, G.M. Specific A10 dopaminergic nuclei in the midbrain degenerate in Parkinson's disease. **Exp. Neurol.**, v. 144, p. 202-213, 1997.

MENDEZ, M.F. The neuropsychiatric aspects of boxing. **Int. J. Psychiatry Med.**, v. 25(3), p. 249-262, 1995.

MENZAGHI, F.; WHELAN, K.T.; RISBROUGH, V.B. et al. Interactions between a novel cholinergic ion channel agonist, SIB-1765F and L-DOPA in the reserpine model of Parkinson's disease in rats. **JPET**, v. 280, p. 393-401, 1997.

MERRILL, J.E.; BENVENISTE, E.N. Cytokines in inflammatory brain lesions: helpful and harmful. **Trends Neurosci.**, v. 19, p. 331-338, 1996.

MICHELI, F.; PARDAL, M.F. GATTO, M. et al. Flunarizine-and cinnarizine-induced extrapyramidal reactions. **Neurology**, v. 37(5), p. 881-884, 1987.

MIKLOSSY, J.; DOUDET, D.D.; SCHWAB, S. et al. Role of ICAM-1 in persisting inflammation in Parkinson disease and MPTP monkeys. **Experimental Neurology**, v. 197(2), p. 275-283, 2006.

MINGHETTI, L.; NICOLINI, A.; POLAZZI, E. Down-regulation of microglial cyclooxygenase-2 and inducible nitric synthase expression by lipocortin. **Br J Pharmacol**, v. 10, p. 85-96, 1999.

MIYOSHI, E.; WIETZIKOSKI, S.; CAMPLESSEI, M.; SILVEIRA, S.; TAKAHASHI, R.N.; da CUNHA, C. Impairment learning in a spatial working memory version and a cued version of the water maze in rats with MPTP-induced mesencephalic dopaminergic neurons. **Brain Res Bull**, v. 58, p. 41-47, 2002.

MIZUTA, I.; NISHIMURA, M.; MIZUTA, E. et al. Relation between the high production related allele of the interferon-gamma (IFN-gamma) gene and age at onset of idiopathic Parkinson's disease in Japan. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 71(6), p. 818-819, 2001.

MOGI, M.; HARADA, M.; KONDO, T. et al. Interleukin-1 beta, interleukin-6, epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha are elevated in the brain from parkinsonian patients. **Neurosci Lett**, v. 180, p. 147-150, 1994a.

MOGI, M.; HARADA, M.; RIEDERER, P. et al. Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) increases both in the brain and in the cerebrospinal fluid from parkinsonian patients. **Neurosci Lett**, v. 165, p. 208-210, 1994b.

MOHANAKUMAR, K.P.; MURALIKRISHNAN, D.; THOMAS, B. Neuroprotection by sodium salicylate against MPTP-induced neurotoxicity. **Brain Research**, v. 864, p. 281-290, 2000.

MONJE, M.L. et al. Inflammatory blockade restores adult hippocampal neurogenesis. **Science**, v. 302, p. 1760-1765, 2003.

MULLER, T.; BLUM-DEGEN, D.; PRZUNTEK, H.; KUHN, W. Interleukin-6 levels in cerebrospinal fluid inversely correlates to severity of Parkinson's disease. **Acta Neurol Scand**, v. 98, p. 142-144, 1998.

NICHOLLS, D.G.; BUDD, S.L. Neuronal excitotoxicity: the role of mitochondria. **Biofactors**, v. 8, p. 287-299, 1998.

NISSENBAUM, H.; QUINN, N.P.; BROWN, R.G. et al. Mood swings associated with the "on-off" phenomenon in Parkinson's disease. **Psychological Medicine**, v. 17, p. 899-904, 1987.

NOGAWA, S.; ZHANG, F.; ROSS, M.E.; IADECOLA, C. Cyclooxygenase-2 gene expression in neurons contributes to ischemic brain damage. **J Neurosci**, v. 17, p. 2746-2755, 1997.

ORR, C.F.; ROWE, D.B.; HALLIDAY, G.M. An inflammatory review of Parkinson's disease. **Progress in Neurology**, v. 68, p. 325-340, 2002.

PADI, S.S.; JAIN, N.K.; SINGH, S.; KULKARNI, S.K. Pharmacological profile of parecoxib: a novel, potent injectable selective cyclooxygenase-2 inhibitor. **Eur J Pharmacol**, v. 491(1), p. 69-76, 2004.

PAL, P.K.; SAMII, A.; CALNE, D.B. Manganese neurotoxicity: a review of clinical features. **Neurotoxicology**, v. 20, p. 227-238, 1999.

PATRIGNANI, P. et al. New insight into COX-2 biology and inhibition. **Brain Res Rev**, v. 48, p. 352-359, 2005.

PAXINOS, M.G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates**. 2nd Edition. Academic press, San Diego, 1986.

PERRY, J.C.; da CUNHA, C.; ANSELMO-FRANCI, J.; ANDREATINI, R.; MIYOSHI, E.; TUFIK, S.; VITAL, M.A.B.F. Behavioural and neurochemical effects of phosphatidylserine in MPTP lesion of the substantia nigra of rats. **Eur J Pharmacol**, v. 484, p. 225-233, 2004.

PERRY, J.C.; HIPOLIDE, D.C.; TUFIK, S.; MARTINS, R.D.; da CUNHA, C.; ANDREATINI, R.; VITAL, M.A. Intra-nigral MPTP lesions in rats: behavioral and autoradiography studies. **Exp Neurol**, v. 195(2), p. 322-329, 2005.

PERRY, T.L.; GODIN, D.V.; HANSEN, S. Parkinson's disease: a disorder due to nigral glutathione deficiency. **Neurosci. Lett.**, v. 33, p. 305-310, 1982.

PICKLO, M.J.; AMARNATH, V.; MELNTYRE, J.O. et al. 4-Hydroxy-2(E)-nonenal inhibits CNS mitochondrial respiration at multiple sites. **J Neurochem**, v. 72, p. 1617-1624, 1999.

PIFL, C.; SCHINGNITZ, G. HORNYKIEWICZ, O. Extrastriatal dopamine in symptomatic and asymptomatic rhesus monkeys treated with MPTP. **Neurochem Int**, v. 17, p. 263-270, 1990.

PIFL, C.; SCHINGNITZ, G. HORNYKIEWICZ, O. Effect of MPTP on the regional distribution of brain monoamines in the rhesus monkeys. **Neuroscience**, v. 44, p. 591-605, 1991.

PINTOR, L.; BAILLÈS, E.; VALLDEORIOLA, F. et al. Response to 4-month treatment with reboxetine in Parkinson's disease patients with a major depressive episode. **General Hospital Psychiatry**, v. 28(1), p. 59-64, 2006.

POLLACK, A.E. Anatomy, physiology and pharmacology of the basal ganglia. **Neurol. Clin.**, v. 19, p. 523-534, 2001.

POLYMEROPOULOS, M.H.; LAVEDAN, C.; LEROY, E. et al. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. **Science**, v. 276, p. 2045-2047, 1997.

PORSOLT, R.D. et al. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v. 266, p. 730-732, 1977.

PRICE, J.L. Olfactory system. In: PAXINOS, G. (ed). **The human nervous system**. San Diego: Academic Press, p. 979-1000, 1990.

PRZEDBORSKI, S. Pathogenesis of nigral cell death in Parkinson's disease. **Parkinsonism Rel Disord**, v. 11, p. S3-S7, 2005.

RAMSAY, R.R.; SINGER, T.P. Energy-dependent uptake of N-methyl-4-phenylpyridinium, the neurotoxic metabolite of MPTP, by mitochondria. **J. Biol. Chem.**, v. 261, p. 7585-7587, 1986.

RICHARD, I.H.; JUSTUS, A.W.; KURLAN, R. Relationship between mood and motor fluctuations in Parkinson's disease. **The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences**, v. 13, p. 35-41, 2001.

RIEDER, C.R.M.; BIANCHIN, M.M.; SCHRÖDER, N. Aspectos Neuropsiquiátricos da Doença de Parkinson. In: KAPCZINSKI, F.; QUEVEDO, J.; IZQUIERDO, I. **Bases Biológicas dos Transtornos Psiquiátricos**. Artmed Editora S.A., São Paulo, 2004.

RIEDERER, P.; SOFIC, E.; RAUSCH, W.D. et al. Transition metals, ferritin, glutathione and ascorbic acid in parkinsonian brains. **J. Neurochem.**, v. 52, p. 515-520, 1989.

ROJO, A.; AGUILAR, M.; GAROLERA, M.T.; et al. Depression in Parkinson's disease: clinical correlates and outcome. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 10, p. 23-28, 2003.

ROSS, B.M.; BROOKS, R.J.; LEE, M. et al. Cyclooxygenase inhibitor modulation of dopamine-related behaviors. **Eur J Pharmacol**, v. 450(2), p. 141-151, 2002.

ROUSSELET, E.; JOUBERT, C.; CALLEBERT, J. et al. Behavioral changes are not directly related to striatal monoamine levels, number of nigral neurons, or dose of Parkinsonian toxin MPTP in mice. **Neurobiol Dis**, v. 14, p. 218-228, 2003.

ROWE, D.B.; LE, W.; SMITH, R.G.; APPEL, S.H. Antibodies from patients with Parkinson's disease react with protein modified by dopamine oxidation. **J Neurosci Res**, v. 53, p. 551-558, 1998.

RUSS, H.; MIHATSCH, W.; GERLACH, M.; RIEDERER, P.; PRZUNTEK, H. Neurochemical and behavioral features induced by chronic low dose treatment with MPTP in the common marmoset: implications for Parkinson's disease? **Neurosci Lett**, v. 123, p. 115-118, 1991.

SAIRAM, K. et al. Non-steroidal anti-inflammatory drug sodium salicylate, but not diclofenac or celecoxib, protects against 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced dopaminergic neurotoxicity in rats. **Brain Research**, v. 966, p. 245-252, 2003.

SANTAMARIA, J.; TOLOSA, E.; VALLÉS, A. Parkinson's disease with depression: a possible subgroup of idiopathic Parkinsonism. **Neurology**, v. 36, p. 1130-1133, 1986.

SCALI, C.; PROSPERI, C.; VANNUCCHI, M.G.; PEPEU, G.; CASAMENTI, F. Brain inflammatory reaction in an animal model of neuronal degeneration and its modulation by an anti-inflammatory drug: implication in Alzheimer's disease. **Eur J Neurosci**, v. 12(6), p. 1900-1912, 2000.

SEDELIS, M.; SCHWARTING, R.K.W.; HUSTON, J.P. Behavioral phenotyping of the MPTP mouse model of Parkinson's disease. **Behav Brain Res**, v. 125, p. 109-122, 2001.

SHANG, F.; LU, M.; DUDEK, E. et al. Vitamin C and vitamin E restore the resistance of GSH-depleted lens cells to H₂O₂. **Free Radical Biol Med**, v. 34, p. 521-530, 2003.

SHERER, T.B.; BETARBEL, R.; KIM, J.H.; GREENAMYRE, J.T. Selective microglial activation in the rat rotenone model of Parkinson's disease. **Neurosci Lett**, v. 341, p. 87-90, 2003.

SHIMOJI, M.; ZHANG, L.; MANDIR, A.S. et al. Absence of inclusion body formation in the MPTP mouse model of Parkinson's disease. **Mol Brain Res**, v.134 p. 103-108, 2005.

SIAN, J.; DEXTER, D.T.; LEES, A.J. et al. Alterations in glutathione levels in Parkinson's disease and other neurodegenerative disorders affecting basal ganglia. **Ann. Neurol.**, v. 36, p. 348-355, 1994.

SIMUNI, T.; STERN, M.B. Does levodopa accelerate Parkinson's disease. **Drugs Aging**, v. 14(6), p. 399-408, 1999.

SKALISZ, L.L.; BEIJAMINI, V.; JOCA, S.L.; VITAL, M.A.B.F.; da CUNHA, C.; ANDREATINI, R. Evaluation of the face validity of reserpine administration as an animal model of depression-Parkinson's disease association. **Prog NeuroPsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 26, p. 879-883, 2002.

SMITH, R.D.; ZHANG, Z.; KURLAN, R. et al. Developing a stable bilateral model of Parkinsonism in rhesus monkeys. **Neuroscience**, v. 52, p. 7-16, 1993.

SMITH, W.L.; MARNETT, L.J.; DeWITT, D.L. **Pharmacol Ther** 49: 153-179, 1991.
SOFIC, E.; LANGE, K.W.; JELLINGER, K. et al. Reduced and oxidized glutathione in the substantia nigra of patients with Parkinson's disease. **Neurosci. Lett.**, v.142, p.128-130, 1992.

SRIRAM, K. et al. Mice deficient in TNF receptors are protected against dopaminergic neurotoxicity: implications for Parkinson's disease. **FASEB J.**, v.16, p. 1474-1476, 2002.

STAAL, R.G; SONSALLA, P.K. Inhibition of brain vesicular monoamine transporter (VMAT2) enhances 1-methyl-4-phenylpyridinium neurotoxicity in vivo in rat striata. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 293, p. 336-342, 2000.

STARKSTEIN, S.E.; PREZIOSI, T.J.; FORRESTER, A.W.; ROBINSON, R.G. Specificity of affective and autonomic symptoms of depression in Parkinson's disease. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 53(10): 869-873, 1990.

STERN, M.B. The early treatment of Parkinson's disease: levodopa, dopamine agonists or both. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 7, p. 27-33, 2001.

STOKES, A.H.; HASTINGS, T.G.; VRANA, K.E. Cytotoxic and genotoxic potential of dopamine. **J Neurosci Res**, v. 55, p. 659-665, 1999.

STOOF, J.C.; WINOGRODZKA, A.; VAN MUISWINKEL, F.L. et al. Leads for the development of neuroprotective treatment in Parkinson's disease and brain imaging methods for estimating treatment efficacy. **European Journal of Pharmacology**, v. 375, p. 75-86, 1999.

STREIT, W.J.S. Microglia and neuroprotection: implication for Alzheimer's disease. **Brain Res Rev**, v. 48, p. 234-239, 2005.

SULZER, D.; ZECCA, L. Intraneuronal dopamine-quinone synthesis: a review. **Neurotox Res**, v. 1, p. 181-195, 2000.

SUNG, S.; YANG, H.; URYU, K. et al. Modulation of NF- κ B activity by indomethacin influences α syn levels but not α syn precursor protein metabolism in a model of Alzheimer's disease. **Am J Pathol**, v. 165(6), p. 2197-2206, 2004.

TADAIESKY, M.T. Efeitos dos inibidores da NOS no modelo de Parkinsonismo induzido por reserpina. Tese de Mestrado, Curso de Pós-graduação em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, 2005.

TAKAHASHI, N.; MINER, L.L.; SORA, I. et al. VMAT2 knockout mice: heterozygotes display reduced amphetamine-conditioned reward, enhanced amphetamine locomotion and enhanced MPTP toxicity. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 94, p. 9938-9943, 1997.

TANAKA, J.; FUJITA, H.; MATSUDA, S. et al. Glucocorticoid and mineralocorticoid receptors in microglial cells: the two receptors mediate differential effects of corticosteroids. **Glia**, v. 20, p. 23-37, 1997.

TANNER, C.M.; OTTMAN, R.; GOLDMAN, S.M.; ELLENBERG, J.; CHAN, P.; MAYEUX, R.; LANGSTON, J.W. Parkinson disease in twins: an etiologic study. **JAMA**, v. 281(4), p. 341-346, 1999.

TEISSMANN P. et al. Cyclooxygenase-2 is instrumental in Parkinson's disease neurodegeneration. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 100, p. 5473-5478, 2003.

THOMAS, D.M.; FRANCESCUTTI-VERBEEM, D.M.; KUHN, D.M. Gene expression profile of activated microglia under conditions associated with dopamine neuronal damage. **FASEB J**, (article in press), 2005.

TURSKY, L.; BRESSLER, K.; RETTING, K.J. et al. Protection of substantia nigra from MPP⁺ neurotoxicity by N-methyl-D- aspartate antagonists. **Nature**, v. 349, p. 414-418, 1991.

UEKI, A.; CHONG, N.; ALBANESE, A. et al. Further treatment with MPTP does not produce parkinsonism in marmosets showing behavioral recovery from motor deficits induced by an earlier exposure to the toxin. **Neuropharmacology**, v. 28, p. 1089-1099, 1989.

UNLAP, T.; JOPE, R.S. Diurnal variation in kainite induced AP-1 activation in rat brain: influence of glucocorticoids. **Mol Brain Res**, v. 28, p. 193-200, 1995a.

UNLAP, T.; JOPE, R.S. Inhibition of NF- κ B DNA binding activity by glucocorticoids in the rat brain. **Neurosci Lett**, v. 198, p. 41-44, 1995b.

von BOHLEN und HALBACH, O.; SHOBER, A.; KRIEGLSTEIN, K. Genes, proteins, and neurotoxins involved in Parkinson's disease. **Progress in Neurobiology**, v.73, p. 151-177, 2004.

WROBEL, A.; ZEBROWSKA-LUPINA, I.; WIELOSZ, M. Dexamethasone reduces locomotor stimulation induced by dopamine agonists in mice. **Pharmacol Rep**, v. 57(4), p. 451-457, 2005.

WU, D.C. et al. Blockade of microglial activation is neuroprotective in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6- tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease. **J. Neurosci**, v. 22, p. 1763-1771, 2002.

YAMAGATA, K.; ANDREASSON, K.I.; KAUFMANN, W.E. et al. Expression of a mitogen-inducible cyclooxygenase in brain neurons: regulation by synaptic activity and glucocorticoids. **Neuron**, v. 11, p. 371-386, 1993.

YAO, Y.; CHINNICI, C.; TANG, H. Brain inflammation and oxidative stress in a transgenic mouse model of Alzheimer-like brain amyloidosis. **J Neuroinflammation**, v. 1(1), p. 21, 2004.

YATES, G.; PANKSEPP, J.; IKEMOTO, S. et al. Social isolation effects on the "behavioral despair" forced swimming test: effect of age and duration of testing. **Physiology & Behavior**, v. 49, p. 347-353, 1991.

ZARRANZ, J.J.; ALEGRE, J.; GOMEZ-ESTEBAN, J.C. et al. The new mutation, E46K, of alpha-synuclein causes Parkinson and Lewy body dementia. **Ann. Neurol.**, v. 55, p. 164-173, 2004.

ZHANG, J.; PERRY, G.; SMITH, M.A. et al. Parkinson's disease is associated with oxidative damage to cytoplasmic DNA and RNA in substantia nigra neurons. **Am J Pathol**, v.154, p. 1423-1429, 1999.

ZHANG, M.Z.; YAO, B.; McKANNA, J.A.; HARRIS, R.C. Cross talk between the intrarenal dopaminergic and cyclooxygenase-2 systems. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 288(4), p. F-840-F845, 2005.